



RESUMEN

Título: “BIOTECNOLOGIAS DE LA REPRODUCCIÓN EN GANADO BUFALINO”.

En esta monografía comenzaremos mencionando el aparato genital de la búfala es de menor tamaño que una bovina. El ciclo estral es (± 16 a 26 días). La especie es estacional dependiendo acción de la melatonina que regula la actividad ovárica y en machos disminuye la libido. Dinámica folicular similar a la especie bovina, con 2 a 3 ondas foliculares y 46.3 folículos de 1mm de tamaño. Periodo de gestación (300 días), intervalo parto (± 441.80 días), edad al primer parto (± 1132.69 días), periodo lactación (240 a 270 días), periodo seco (± 195.78 días), periodo servicio 3 meses posparto, vida útil 18 años, sementales 7 años, peso al nacer 34-38 kg. La morfología del tracto reproductivo del macho es de menor tamaño en comparación al bovino, pubertad 6-8 meses, madurez sexual 11 meses. El búfalo se adapta fácil a vagina artificial no lubricada, temperatura 44-45°C, volumen de semen 3ml, concentración (6×10^6 al 12×10^6 espermatozoides/ml), pH (6.7 a 7.5). La criopreservación es similar al bovino. Diluyentes usados TRIS, TES, CEBRAN I, CEBRAN II. Dilución (40000 espermatozoides/pajilla),



hasta 8% de glicerol, refrigeración 0.25°C/min hasta 5 °C con nitrógeno líquido. Duración celo (18-24 horas), menor conducta homosexual 20%, detección celo por síntomas y machos vasectomizados. “Ovsynch” para sincronización de celo, implantes y hormonas utilizadas en bovinos con 50 y 44% de eficacia. Superovulación eficaz con (eCG 300 UI) hormona para bovinos. Transferencia de embriones es de baja eficacia en comparación al bovino, presentando plantillas y protocolos de superovulación y transferencia de embriones.

Palabras Claves: Biotecnologías, criopreservación, inseminación artificial, superovulación.

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN.....11

2. OBJETIVOS.....13

2.1. Generales.....13

2.2.Específicos.....13

3. MARCOTEÓRICO.....14

3.1. Historia del búfalo.....14

3.2. Clasificación taxonómica y clases de ganado
bufalino.....16



3.3. Biología de la reproducción de la hembra
bufalina. 22

3.3.1. Diferencias anatómicas, bilógicas y endocrinas
entre la vaca y la búfala.22

3.3.2. Cido estral.25

3.3.3. Estacionalidad reproductiva.25

3.3.4. Dinámica folicular.28

3.4. Parámetros reproductivos en búfalas.31

3.4.1. Periodo de gestación.31

3.4.2. Intervalo inter partos.32

3.4.3. Edad al primer parto.32

3.4.4. Periodo de lactación.33

3.4.5. Periodo seco.33

3.4.6. Periodo servicio.34

3.5. Biología de la reproducción del macho bufalino.35

3.5.1. Morfología del aparato genital..35

3.5.2. Pubertad, madures sexual.36

3.5.3. Entrenamiento de reproductores jóvenes para la
recolección de semen con el método de vagina artificial. .39

3.6. Criopreservación de semen bufalino.40



3.6.1. Recolección procesamiento y coleccion de semen de macho bufalino.....	40
3.6.2. Características del eyaculado a ser congelado.....	41
3.6.3. Examen de la morfología de los espermatozoides...	42
3.6.4. Procedimiento de la congelación de semen.....	46
3.6.5. Diluyentes.	46
3.6.6. Dilución.	50
3.6.7. Refrigeración y tiempo de equilibrio.	50
3.6.8. Congelación.	51
3.6.9. Evaluación del semen después de descongelación.	52
3.7. Inseminación artificial en búfalas.	52
3.7.1. Síntomas de celo (estro).	53
3.7.2. Métodos de detección del estro.	57
3.7.3. Sincronización de estros.	58
3.7.4. Técnicas de inseminación artificial.	61
3.7.5. Inseminación artificial con celo detectado.....	62
3.7.6. Protocolos de inseminación a tiempo fijo en búfalas.	64
3.7.7. Sincronización de la ovulación para IATF durante todo el año.	70



3.8. Superovulación en la hembra bufalina.73

3.8.1. Métodos de superovulación.73

3.9. Transferencia de embriones.76

3.9.1. Sincronización de celos en hembras donantes para
transferencia de embriones.78

3.9.2. Sincronización de celos en hembras receptoras para
transferencia de embriones.81

3.9.3. Plantilla de donantes.83

3.9.4. Protocolo de superovulación y transferencia de
embriones.85

4. CONCLUSIONES.89

5. BIBLIOGRAFÍA.93

6. ANEXOS.104



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867

Yo, Jhonatan Marcelo Alvarado Ulloa, reconozco y acepto el derecho de la Universidad de Cuenca, en base al Art. 5 literal c) de su Reglamento de Propiedad Intelectual, de publicar este trabajo por cualquier medio conocido o por conocer, al ser este requisito para la obtención de mi título de Médico Veterinario Zootecnista. El uso que la Universidad de Cuenca hiciere de este trabajo, no implicará afección alguna de mis derechos morales o patrimoniales como autor.

Jhonatan Alvarado U.
010486464-0



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Fundada en 1867



Yo, Jhonatan Marcelo Alvarado Ulloa, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor/a.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Jhonatan Alvarado U.", written over a horizontal line.

Jhonatan Alvarado U.
010486464-0



NOTA DE ACEPTACIÓN

Aprobado por el Tribunal de Tesis de Grado en cumplimiento con los requisitos exigidos por la Universidad de Cuenca para optar el Título de Médico Veterinario y Zootecnista.

Dr. Manuel Soria P.

Presidente de Tribunal de Tesis.

Dr. Jaime Maldonado.

Integrante del Tribunal de Tesis.

Dr. Jhonny Narváez.

Integrante del Tribunal de Tesis.



UNIVERSIDAD DE CUENCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



UNIVERSIDAD DE CUENCA.
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**“BIOTECNOLOGÍAS DE LA REPRODUCCIÓN EN
GANADO BUFALINO”**

Monografía previa a la obtención
Del Título de Médico
Veterinario Zootecnista.

AUTOR: Jhonatan Marcelo Alvarado Ulloa.

TUTOR: Dr. Carlos Soria P.

CUENCA – ECUADOR.

2012



DEDICATORIA

Dedico este trabajo con profundo cariño y gratitud a mis padres que supieron brindarme constantemente apoyo durante mi vida estudiantil; y a mis hermanos que han sido la fuerza que me ha impulsado a llegar a cumplir esta meta, la graduación.

JHONATAN ALVARADO.



1. **INTRODUCCIÓN.**

Conforme se van mejorando los sistemas productivos en la alimentación ganadera, los sucesos naturales tales como reproducirse y crecer dejan de serlo y se transforman en sucesos controlados, resultando así en un concepto de parámetros que definen la rentabilidad de las explotaciones, debido a que, el búfalo es considerado una especie con superioridad económica comparada con otras especies domesticas, preferentemente por su gran rusticidad y que se adapta fácilmente a las más variadas condiciones climáticas y de manejo manteniendo su producción aun en las condiciones más adversas. Considerando que el termino búfalo nos lleva a considerar como primer concepto animales de gran tamaño y salvajes.

Por lo que es necesaria una información de las grandes ventajas del búfalo que se pueden obtener considerando unas de las tecnologías que existen hoy en día. Empezaremos tratando las biotecnologías reproductivas, refiriéndonos a la criopreservación de semen que se utiliza nuevos diluyentes para obtener mejores resultados de mejoramiento genético y los avances que se han tenido.



La Inseminación Artificial (IA). La mayoría de explotaciones bufalinas ordeñan, sin embargo algunos no lo hacen debido a la imposibilidad de tener el precio justo por la leche, la media de producción es de 1200 litros lactancia en 300 días (*Juan Gonzalo Ángel Restrepo 2011*), mostrándonos a las claras la necesidad de incrementarla, para esto fue diseñada ya hace unos 50 años la IA.

En cuanto a la mayoría de protocolos y plantillas de los programas de transferencia y superovulación en la especie bufalina se trata de mejorar para la aplicación de nuevos estudios para la mejora de esta especie por lo que se podría mencionar que es semejante a la de los vacunos.



2. OBJETIVOS.

2.1. General.

- Exponer información actualizada sobre las nuevas biotecnologías de la reproducción en razas bufalinas.

2.2. Específicos.

- Resumir la biología de la reproducción del ganado bufalino.
- Recopilar información sobre la crioconcervación de semen bufalino.
- Describir los programas de inseminación artificial en ganado bufalino.
- Indicar los programas de transferencia de embriones.



3. MARCO TEÓRICO.

3.1. Historia del búfalo.

En excavaciones arqueológicas realizadas en la India, existen evidencias que demuestran que en ese país se lo conoce al búfalo desde 60.000 años antes de Cristo. Estimándose que fue domesticado 3.000 años antes de Cristo en el Valle de Indus (en India), en la región del Ura (actual Irak) y en China. De Asia fue llevado a África, luego a Europa, Oceanía y más recientemente se lo introdujo al continente americano. La población mundial de búfalos se estima en más de 150 millones de cabezas, de los cuales el 95% están en Asia. Los búfalos se encuentran presentes en todos los países americanos. (30).

Se estima que en el continente americano existen 3.800.000 búfalos. Los países americanos con mayor población bufalina son Brasil con 3.500.000 cabezas, Venezuela con 350.000, Colombia con 150.000 y Argentina con 1000.000. En Latinoamérica su cría se viene realizando desde hace unos años en países como Argentina, Brasil,



Colombia y Venezuela donde; por ser países tropicales, la cría ha sido optima. Los rebaños bufalinos de los diferentes países sudamericanos tuvieron su origen en importaciones realizadas desde Australia, Bulgaria, Egipto, India, Italia, Rumania y del sudoeste asiático. Inicialmente fueron introducidos hacia finales del siglo XIX en el Caribe y en el norte del Brasil. (28).

Hasta hace apenas veinte años, en el mundo se prestaba poca atención a las posibilidades de utilización de estos animales como fuente de proteína para el consumo humano, esencialmente porque la mayor población se encuentra en países en vías de desarrollo, principalmente del continente asiático, donde no se disponían de la posibilidad de registrar, evaluar y utilizar científicamente los resultados de sus rebaños, además de que su explotación se realizaba esencialmente de forma natural por criadores marginales en condiciones mínimas de manejo. (40).

Los búfalos no compiten con otras especies en la producción de alimentos, más bien resultan un complemento, ya que en terrenos pantanosos e inundables demuestran gran capacidad de adaptación, aunque en los



últimos años sus producciones adquirieron importancia esencial, en áreas con mejores características bajo un concepto de cría con superior especialización (controles, selección, manejo alimentario y programas de salud). (33).

No obstante en los países cuyas condiciones naturales y económicas necesitan de animales que se adapten a ambientes difíciles, sin depender de recursos materiales y genéticos. (21).

3.2. Clasificación taxonómica y clases de ganado bufalino.

Reino	Animal
Phylum	Cordados
Subphylum	Vertebrados
Clase	Mamíferos
Orden	Artiodáctilos
Familia	Bóvidos
Subfamilia	Bovinos
Nombre científico (género y especie)	<i>Bubalus bubalis</i>

Fuente: Reyes H. (36)

En la escala zoológica el búfalo doméstico es tradicionalmente agrupado dentro de la sub- familia Bovide, género Bubalus, especie bubalus bubalis, la cual es dividida



en dos grupos principales el bubalus bubalis sp. Conocido como “Búfalo de río o Búfalo lechero” con 50 pares de cromosomas y el bubalus bubalis var. kerebau denominado “Búfalo de pantano o Carabao” con 48 pares de cromosomas . (29).

Taxonomía de la familia bovidae.

FAMILIA	SUBFAMILIA	CARACTERÍSTICAS	GENERO	ESPECIES	SUBESPECIES	NOMBRE COMUN DE LOS ANIMALES
Bovidae	Bovinae	Grandes rumiantes, sesenta cromosomas y el género Bibos que los animales gaur y gayal tienen cincuenta	Bos	Bos taurus		Vacunos
				Bos indicus		
			Bibos			Gaur, Gayal, Banteg
			Poephagus			Yak del Himalaya
	Bubalinae	Todos los bufalinos cuyos números de cromosomas varían entre cuarenta y ocho a cincuenta y cuatro	Bison	Bos bison		Bison Americano
			Syncerus	Syncerus coffer		Búfalo Cape africano (cincuenta y cuatro cromosomas)
				Syncerus nanus		Búfalo rojo del Congo (cincuenta y cuatro cromosomas)



			Bubalus	Bubalus bubalis	Bubalus bubalis fluvialis	Búfalos de río (cincuenta cromosomas)
				Bubalus bubalis	Bubalus bubalis limneticus	Búfalos de pantano (cuarenta y ocho cromosomas)
			Anoa	Anoa quaresii		Búfalos pequeños de las islas Sulawesi, Indonesia
				Anoa depressicornis		

Fuente: Valdés, MA. (40).

En la actualidad existen muchas interrogantes y mitos con respecto a este fabuloso animal. Entre los más destacados están que dañan los potreros, rompen las cercas, su carne es dura, no se vende, y tiene un temperamento agresivo. Sin embargo, se ha podido investigar que es todo lo contrario y es evidente que su comportamiento depende del manejo empleado con estos animales. En el Ecuador la explotación de búfalos se encuentra en auge, a pesar que se conoce muy poco sobre esta especie. (37).

En el país se consume queso de búfala como algo especial; sus altos costos mantienen precios elevados para el consumo popular. Las mayores explotaciones con buenos resultados se mantienen en el litoral Ecuatoriano los primeros búfalos ingresaron al Ecuador provenientes del Brasil en 1910, su importación es muy costosa lo que hace que su explotación se vea limitada. Hay tres razas que más se explotan económicamente en el país como son la Mediterránea, Murrah y Jafarabadi que son de doble propósito (leche y carne) y a veces de triple propósito como el trabajo. (28).

- **Mediterránea.**

Se formó en Italia, originada de la raza Surti. Sus colores comunes son el negro, gris oscuro, marrón oscuro y negro pizarra. Sus cuernos medianos dirigidos hacia atrás y hacia los costados con las puntas cerradas hacia arriba y hacia adentro formando una media luna. Los adultos tienen un peso promedio de 700 a 800 kg en los machos y 600 kg las hembras. El cuerpo es compacto, macizo y profundo, con ubres de tamaño mediano, bien formadas, con cuartos bien cuadrados. (30).

-
- **Murrah.**

Esta raza es originaria de Punjab, India. Su nombre es una palabra hindú que significa “espiralado” y deriva de la forma de sus cuernos los cuales son negros y espiralados desde su misma base, primero se orientan hacia los costados y luego completan el espiral hacia atrás. Su color es negro azabache. Es la raza más adaptada al frío. (34).

Es la raza más difundida en el mundo. Es de menor volumen corporal, pero es la raza lechera por excelencia y buena productora de carne. Es un animal corto, compacto, macizo, robusto, con una conformación profunda y ancha, de extremidades cortas y huesos pesados, de cabeza mediana, orejas cortas, piel gruesa. El peso promedio al nacimiento es de 38 kg, el de la vaquillona de 24 meses es de 370 kg, en vientres 550-600 kg. Los adultos tienen un peso promedio de 600 a 800 kg en los machos y de 500 a 600 kg en las hembras. Tienen ubres bien desarrolladas, con venas bien marcadas y cuartos bien cuadrados. (30).

- **Jafarabadi.**

Su nombre deriva de la ciudad del mismo nombre en la India. Son de color negro y poseen manchas blancas en la cabeza y en la parte inferior de las patas. Los cuernos pesados y anchos tienden hacia abajo, atrás de los ojos, terminando con un rulo espiralado hacia atrás. Es la raza de mayor tamaño corporal, sumamente precoces y con una extraordinaria capacidad de ganancia de peso. Gran aptitud cárnica. Es apta para zonas de pastos altos y abundantes, aunque no sean verdes. Sin embargo, poseen una caja torácica de gran tamaño. Los machos tienen un peso de 700 a 1.500 kg y las hembras 650 a 900 kg. Las ubres presentan una excelente conformación. (39).

3.3. Biología de la reproducción de la hembra bufalina.

3.3.1. Diferencias anatómicas, biológicas y endocrinas entre la vaca y la búfala.

Para comprender un poco mejor las funciones reproductivas en las hembras bufalinas comenzaremos diciendo que el aparato genital de la búfala es muy similar al de la hembra bovina pero con ciertas diferencias morfológicas y fisiológicas.

Cuadro 3.3.1 Diferencias anatómicas entre una vaca (*bos*) y una búfala (*Bubalis*)

Características	Vaca	Búfala
Ovario	C=3.5cm-4.5cm L =2.5cm P=15-20g	C=2.5cm-3.0cm L=1.4 cm P 4.6g
Cuerpo lúteo	Amarillo claro, proyectándose hasta el medio ciclo hacia la superficie del ovario	Marrón/rojizo, crecimiento hacia el interior del ovario. Difícil Prominencia



Oviducto	C=25cm-26cm Atravez de su recorrido encuentra Adherida a la Bursa ovárica	C=19cm-24cm Grueso, se localiza contenida Profundamente en la Bursa ovárica
Cuernos uterinos		Mas rígidos y tortuosos
Cuerpo del útero	C=6.35cm-12.70cm	C=5.3cm-8.0cm
Cérvix	Muscular de 2 a 3 anillos cervicales Abiertos durante el celo	Tortuosa con mas anillos de 3 a 5 anillos cervicales, de difícil dilatación el celo.
Tipo de placenta	Cotiledonaria, epitelio-corial	Cotiledonaria, epitelio-corial
Folículos Primordiales. Población Ovárica al nacimiento	60.000- 10-000	12.000-20.000
Duración del ciclo	20-24 días	20- 24 días, dependiendo de la raza y manejo.
Duración del celo	12.5 horas-27.8 horas	8-32 horas
Síntomas de celo	Pronunciados, actividad homosexual Intensa, se deja	Menos pronunciados, Poca actividad homosexual,



	montar, descarga de Moco limpio	Poca descarga de moco
Periodo de gestación	265-280 días	Depende de la raza Carabao 325-335 días Murrah y otros tipos 293-318 días.
Perfil endocrino		
Progesterona durante La fase luteínica	6,0-6,7 ng/ml	Carabao 1,5-2,6ng/ml Murrah 2,6-6,0ng/ml
17-beta estradiol	25-30pg/ml	Carabao 8-10pg/ml Murrah 30-32pg/ml
LH	Ondas pulsátiles, fase luteínica 0,3-1,8ng/ml; medio del ciclo 1,2-7,0ng/ml inicio del celo 15-65ng/ml.	Ondas pulsátiles aun no establecidas Niveles basales durante el ciclo 0.72-2.0ng/ml inicio del celo.
FSH	Fluctuaciones irregulares durante el celo entre 10-400ng/ml, con secreción máxima de 78-600ng/ml durante estro	Fluctuación media de 12.0ng/ml, con Valor máximo de 60ng/ml en el día del celo

Fuente: Baruselli . (3), García (12). Akntar (5)



3.3.2. Cido estral.

La duración del cido estral de la búfala varía entre 16 a 33 días, con una mayor concentración entre 21 a 24 días. Esa amplitud de variación parece que está en dependencia de varios factores, en ellos el manejo, la alimentación, el clima y los factores genéticos, pero es más variable este periodo que el vacuno, los ciclos cortos de 15 y 29 días se consideran como normales en las búfalas de río mientras que el vacuno la duración de los ciclos estrales es de 17 a 24 días. La mayoría de los ciclos del búfalo comprenden un rango de 17 a 26 días. De la misma manera en que se presenta en la vaca taurina y cebuina, el cido estral de la búfala presenta 4 fases distintas a saber: proestro estro, metaestro y diestro (36).

3.3.3. Estacionalidad reproductiva.

Antes de la programación de cualquier evento reproductivo en la especie bufalina, es necesario conocer previamente las características reproductivas estacionales de la especie.(16).



Las búfalas presentan una marcada estacionalidad reproductivas en determinadas épocas del año en diferentes regiones tropicales y subtropicales como son los partos no queriendo decir que con esto se produzcan partos en cualquier mes del año, este comportamiento se relaciona directamente a factores climáticos: precipitación, humedad relativa, temperatura ambiental, horas luz, etc. Esto se atribuye a que existe una depresión de la actividad ovárica. A pesar de ser fértiles durante todo el año en los machos manifiestan una baja en la libido y baja calidad seminal. Su actividad sexual aumenta cuando las horas de luz diarias disminuyen. (11).

El fotoperiodo actúa a través de una señal la melatonina de la glándula pineal desinhibe la secreción activa de la hormona LH tónica. La secreción tónica de LH es la responsable, junto con la FSH, de la secreción de estradiol de los folículos maduros, relación mantenida por una retroalimentación positiva, pero al aumentar las horas de luz, el centro tónico de LH la sensibilidad en el hipotálamo aumenta y se invierte el sistema de retroalimentación por lo que se libera menos cantidad de LH, de manera que no



habrá suficiente estradiol para estimular el centro preovulatorio de LH, entonces no habrá ovulación. (10)

Con respecto a la época de monta e inseminación artificial, la frecuencia de inseminaciones puede ser considerada como un indicador de animales en estro durante los diferentes meses del año; la estacionalidad de crías depende de la variación de la estación y la disponibilidad de buena calidad de calostro para los búfalos recién nacidos. (1). (11).

En clima tropical húmedo amazónico de nuestro país el búfalo se puede reproducir durante todo el año, pero en buenas condiciones de manejo nutricional. No obstante hasta el presente hay una tendencia a concentrar las pariciones, especialmente en animales de cría extensiva. Factores ambientales, tales como la temperatura, humedad y alimentación de la región amazónica, están directamente asociados con las lluvias y el caudal de los recursos de agua, teniendo una gran influencia sobre este fenómeno.(37).



3.4.1. Dinámica folicular.

La atención debe centrarse en la mejora de las respuestas de superovulación y las tasas de concepción, y la reducción de la variabilidad en la tasa de ovulación y la pérdida del embrión. (18).

Por definición, la dinámica folicular puede ser resumida como un proceso continuo de crecimiento y regresión de un grupo de folículos antrales, uno de los cuales se desarrollara hasta folículo preovulatorio. (2)

El ciclo se divide en tres fases: fase folicular, fase periovulatoria y fase luteal:

- Fase folicular: inicio de luteólisis, y la progesterona en sangre decae a niveles menores a 1 ng/ml, consecuentemente, aumenta la frecuencia de los pulsos de LH y, en menor grado, la FSH. El desarrollo folicular se completa y se produce estradiol para iniciar el celo y la descarga preovulatoria de LH.
- Fase periovulatoria: es inicio del celo y ovulación. Los niveles de estradiol aumentan a niveles máximos el día

previo al inicio del celo, e induce la descarga preovulatoria de LH que causa la ovulación.

- Fase luteal: después de la ovulación se forma el CL y las concentraciones de progesterona comienzan a elevarse entre los días ocho y doce y luego disminuyen hasta concentraciones basales antes del próximo estro, como respuesta a la secreción uterina de $\text{PGF2}\alpha$ y en ausencia de un embrión viable en el útero. (10).

Estudios de crecimiento folicular en bufalinos se realizó a través de la palpación rectal las bubillas presentan folículos mayores a 8mm a mediados del ciclo, con 2 ondas de crecimiento folicular, la primera onda folicular inicia en el 3er día permaneciendo hasta el 13vo día del ciclo, mientras que la segunda comienza el día 9no hasta el final del ciclo. (11).

El número de folículos reclutados por onda en cortes histológicos de folículos primordiales en bubillas cíclicas y no cíclicas respectivamente mayores a 1mm es de 46.3 folículos. El número de folículos atrésicos es de 2/3 de los folículos en crecimiento, los ovarios poseen 20% de los



folículos antrales, folículos no atrésicos mayores a 17mm relacionados con la respuesta ovárica a gonadotropinas exógenas es de 1 a 5. (3).

Búfalas con 3 ondas de crecimiento folicular presentan una mayor duración de la fase luteal de intervalo inter-ovulatorio y del ciclo estral y el diámetro máximo de los folículos de la primera onda es significativamente mayor que el diámetro máximo de los folículos de la segunda onda. (18).

La presencia de ciclos con fases luteales cortos, durante el reinicio de la actividad ovárica en periodo pos parto en búfalos con elevadas concentraciones de progesterona y el reducido diámetro máximo de los folículos inhiben el crecimiento folicular de esta especie. (19). (11).

Existe gran variación en el día del inicio de la segunda onda folicular, este fenómeno muestra la dificultad que existe en sistematizar los esquemas de superovulación en medio del ciclo estral. El número de folículos reductados depende de factores individuales. Por lo que el autor considera que:



- La dinámica folicular de la especie bufalina es similar a la de la bovina.
- Hay una mayor frecuencia de ciclos con 2 ondas pero también existen ciclos de 3 ondas incluso de una onda folicular.
- El número de ondas foliculares durante el ciclo está asociado a la duración de la fase luteal y del ciclo estral. (3).

3.4. Parámetros reproductivos en búfalas.

3.4.1. Periodo de gestación.

Tiempo que transcurre entre la concepción y el parto, la duración media del embarazo es cerca de 300 días. La heredabilidad es de 40% a 50% positivo sobre la selección. El período de gestación es de entre 299 y 340 días. La gestación de fetos machos dura 3-4 días más que de la hembra. Factores tales como: número de partos, época de parto, el sexo y el peso de las crías también interfieren con el período de gestación. (15).



3.4.2. Intervalo inter partos.

Tiempo comprendido entre dos partos consecutivos. Hay dos componentes que determinan su duración, período de gestación y el período de servicio. en promedio es de 441,80 días que van de 320 a 508 días. (7).

Sirve para medir la eficiencia reproductiva, siendo aceptable que la búfala produzca dos bucerros cada tres años. (36).

3.4.3. Edad al primer parto.

En promedio las búfalas presentan el primer parto a una edad temprana ($1140 \pm 283,5$ días), siendo de gran importancia ya que cuanto más precoz sea el animal, más podrá producir durante su vida reproductiva. (45).

Menores edades de las búfalas de primer parto reducen el intervalo de generaciones, mientras que períodos más cortos de servicio y el menor intervalo entre partos ofrecen un mayor número de bubillas de alto potencial genético. (13).

Búfalos cruzados, entre Murrah x Mediterránea el promedio de edad al primer parto es de 1291 ± 235 días. Estos



resultados fueron más altos que el promedio (1101 ± 20 días) estudios más recientes han destacado información sobre la edad al primer parto que es de (1132.69 ± 166.69 días). (3).

3.4.4. Periodo de lactación.

A medida que se aumenta el período de lactancia, disminuye la producción total leche, un aumento del intervalo entre partos, influye negativamente en la eficiencia reproductiva del rebaño de búfalas. Por lo que el periodo de lactancia expresado en días es de 240-270 normalmente para las razas lecheras. (32).

3.4.5. Periodo seco.

Intervalo entre el último día de la lactancia y el próximo parto. Es influenciado por el periodo de lactación, involución uterina adecuada, la reanudación de la actividad ovárica, patologías ováricas, bajas tasas de concepción y otros. En razas Murrah el periodo de secado es de más o menos de 195.78 ± 101.15 días. (15).



3.4.6. Periodo servicio.

Intervalo entre el parto y el primer ciclo fértil (concepción).
La búfala debe estar preñada hasta los 2 o 3 meses pos-parto para obtener buenas tasas de nacimientos. (8).

3.5. Biología de la reproducción del macho bufalino.

3.5.1. Morfología del aparato genital.

El aparato genital masculino de los búfalos es similar al de los bovinos pero las estructuras son más pequeñas en búfalos jóvenes el peso va entre 400 y 600 kilos. Los testículos tienen las siguientes medidas para peso, longitud y anchura para el testículo derecho e izquierdo 110.15g, 8.83cm, 4.64cm y 33g, 8.77cm, 4.58cm, respectivamente. (6).

En cuanto a las glándulas vesiculares, para la derecha e izquierda una longitud y anchura de 5,33cm, 1,96cm, 4,97cm, 1,87cm, respectivamente; la longitud y diámetro de las ampollas de los conductos deferentes, derecha e izquierda, miden 9,36cm, 0,38cm, 9,27cm y 0,64cm, respectivamente. Estas medidas demostraron ser considerablemente bajas en comparación con los tamaños para *Bos taurus* como para *Bos indicus*. (41).



El pene es de forma cilíndrica y posee poco tejido eréctil. La espermatogénesis comienza hacia los doce meses y la aparición de espermatozoides viables en el eyaculado ocurre a los 24 meses, con un promedio de 85,15cm y 1,95cm, respectivamente, el glande se ha presentado menos desarrollado que en los bovinos, así como la vaina prepucial es menos larga y se adhiere a la pared abdominal. (32).

3.5.2 Pubertad, madures sexual.

Al comienzo del destete, entre seis y ocho meses empieza gradualmente la secreción de gonadotropinas por la pituitaria (FSH y LH). Comenzando la secreción de hormonas sexuales masculinas principalmente la testosterona por las células de Leydig a partir de la fase final del proceso de espermatogénesis, cuando el animal posee entre diez y catorce meses cuando alcanza la pubertad. En esta fase ocurre también un rápido crecimiento de todo el sistema genital, cuando el animal muestra interés por la hembra y es entonces capaz de fecundar una o más hembras en celo. (42).



Después de ese periodo, sigue la fase de madurez sexual, cuando el sistema genital llega a su producción plena de hormonas y espermatozoides, esta fase se alcanza entre los veintidós y veinticuatro meses de edad.(2)

Existe una marcada diferencia entre la morfología y el tamaño del sistema genital bufalino y las especies *Bos taurus* y *Bos indicus*. La circunferencia escrotal son menores a los de raza cebú a la edad de 11 meses que en la raza Murrah.(23).

La circunferencia escrotal ideal para los sementales entre treinta y treinta y seis meses de edad de la raza Murrah está alrededor de $30 \pm 3,6$ cm (24,4 a 31,9cm (3).



Quadro 3.5.1 Clasificación de la circunferencia escrotal en sementales bufalinos de raza Murrah.

Edad (meses) Bueno (cm)	Media (cm)	Muy bueno(cm)	Cuestionable (cm)
12 – 17	$21 \pm 3,3$ >23	23	>19
18 – 23	$25 \pm 3,2$ >26	25	>21
24 – 29	$27 \pm 2,8$ >29	28	>23
30 – 35	$29 \pm 3,5$ >30	29	>25
36 – 41	$32 \pm 3,1$ >33	32	>28
42 – 47	$34 \pm 2,9$ >34	33	>30
48 – 53	$36 \pm 3,5$ >36	34	>31
54 – 60	$38 \pm 3,6$ >39	36	>32

Fuente: Vale *et al.* (42).

La raza Mediterránea, la pubertad se alcanza entre los diez y catorce meses de edad, y una circunferencia escrotal de $21,7 \pm 1,9$ cm y la madurez sexual alcanza a los veinticuatro meses de edad con $31,1 \pm 2,9$ cm de CE. (30).



3.5.3. Entrenamiento de reproductores jóvenes para la recolección de semen con el método de vagina artificial.

El búfalo se adapta fácilmente para servir en la vagina artificial. Para ello, se observa el comportamiento de los machos jóvenes, antes que lleguen a la pubertad, por la existencia de una intensa actividad homosexual entre machos jóvenes, incluido el dominio de un macho en un grupo en particular. Una vez identificada la preferencia de un determinado animal por otro, se deben escoger los dominados, colocarlos en un cepo de monta y dejar al dominador hacer montas falsas, teniendo cuidado de desviar el pene sin tocarlo y sin la presencia de la vagina artificial.(32).

Una vez entrenado el macho, generalmente eyaculará en la vagina artificial en el primer intento. Cabe señalar que el comportamiento sexual de los búfalos en comparación con los bovinos es más débil, asemejado a los cebuinos. El bufalino joven puede ser condicionado para saltar un macho o una hembra, aunque el tiempo de reacción sexual



y libido son mucho más débiles. Atributos como el volumen del semen, la concentración, la actividad de masas y fuerza tienen poca variación cuando se compara con los bovinos y los cebuinos. (3).

3.6. Criopreservación de semen bufalino.

3.6.1. Recolección procesamiento y colección de semen de macho bufalino.

La utilización del semen congelado como herramienta para el mejoramiento genético de los búfalos fue iniciada en la India cuando la Inseminación Artificial (IA) fue por primera vez realizada utilizando semen congelado en pastillas y ampollas. Sin embargo, el desconocimiento de una tecnología adecuada para la especie bufalina, en lo que concierne a los diluyentes, concentración de glicerol, tiempo de equilibración, métodos de congelación y falta de un protocolo, llevó a resultados pobres y variables. (42).

3.6.2. Características del eyaculado a ser congelado.

El semen del semental bufalino puede presentar problemas asociados con los factores climáticos o estacionales, como consecuencia de la gran sensibilidad del epitelio seminífero al aumento de la temperatura ambiental. Así, el mejor horario para la recolección del semen bufalino es en el inicio del día (aún oscuro) o al final del atardecer, puesto que esta especie presenta un comportamiento sexual nocturno.(21).

Se debe usar la vagina artificial no lubricada, a una temperatura entre 44-45 °C. Cada sesión de recolección consistirá de dos eyaculados, con un intervalo de mínimo 30 minutos. La utilización de montas falsas con desvío del pene, son recomendadas para mejorar la calidad del eyaculado. Después de la recolección, el eyaculado debe ser evaluado para los parámetros mínimos establecidos y colocado en baño maría a una temperatura de 37 °C. (43).

3.6.3. Examen de la morfología de los espermatozoides.

Comparación de las características seminales con el ganado bos taurus.

Quadro 3.6.1. Características del eyaculado del semental bufalino obtenido mediante la vagina artificial.

Característica	Patrón normal
Color	Blanco, blanco-lechoso, con estrías oscuras-azules
Volumen	3 ml (2 \ 8)
Turbidez	>3
Motilidad (%)	>70
Vigor (motilidad individual)	>3
Concentración	6 x 10 ⁶ al 12 x 10 ⁶ espermatozoides/ ml
Células espermáticas vivas (%)	>70
Patología espermática (%)	<30
pH	6,7 al 7,5

Fuente: Vale GW. (42).



Cuadro 3.6.2. Características del eyaculado del semental bos taurus obtenido mediante la vagina artificial.

Característica	Patrón normal
Color	Blanco, blanco-lechoso, con estrias oscuras-azules
Volumen	5-8ml
Turbidez	>4
Motilidad (%)	70
Vigor (motilidad individual)	4
Concentración	6 x 10 ⁶ espermatozoides/ml
Células espermáticas vivas (%)	92
Patología espermática (%)	45
pH	6,67-7.9

Fuente: Vejarano OA. Et al. (44).

Cuadro 3.6.3 Escala para la evaluación microscópica de la motilidad del semen bovino

Motilidad (%)	Evaluación	Valor numérico
80 – 100	Muy buena	5
60 – 80	Buena	4
40 – 60	Media	3



20 – 40	Pobre	2
0 – 20	Mala	1

Fuente: OTERO, MR. (26)

Cuadro 3.6.4. Escala para la evaluación microscópica del vigor del semen bufalino

Vigor	Descripción
5	Todos o casi todos los espermatozoides con enérgicos movimientos progresivos
4	La mayoría de los espermatozoides con rápidos movimientos progresivos
3	Espermatozoides con movimientos progresivos de intensidad regular y movimientos oscilatorios
2	Algunos espermatozoides con movimiento progresivo vigoroso y mucho movimiento oscilatorio
1	Solamente espermatozoides con movimiento oscilatorio
0	Todos los espermatozoides se encontraban inmóviles



Fuente: Vale, GW. (42).

3.6.4. Procedimiento de la congelación de semen.

El principio básico para la congelación de semen bufalino es semejante al de cualquier otra especie animal: eyaculado, dilución, equilibración, congelación, descongelación y test de termoresistencia. (20).

3.6.5. Diluyentes.

Actualmente, los innumerables diluyentes utilizados en la criopreservación de semen bufalino son citrato-yema de huevo, lactosa, leche descremada, suero de leche, TRIS yema y más recientemente, el diluyente a base de TRIS (Tris-hidroximetil amino metano), cuya composición se presenta en el cuadro 3.6.5.1, mientras que el cuadro 3.6.5.2 presenta la fórmula del TES (Trishidroximetilamino etano), siendo el glicerol al 7% el crioprotector común a todos los diluyentes. (3).

Han surgido otras alternativas como la utilización de agua de coco, empleada en bovinos y en diferentes animales



domésticos, incluso en la especie humana, congelaron por primera vez con éxito en Brasil semen bufalino utilizando diluyentes a base de TRIS (trishidroximetilamino metano) y TES (tris- hidroximetil amino etano). (26).

Motilidad pos descongelación es superior a 40% y un vigor 3 y cuando fue usado en el campo en programas pilotos, presentó una fertilidad comprobada a través del porcentaje de nacimiento superior al 57%. Se utiliza como alternativa un diluyente a base de agua de coco, obteniendo resultados satisfactorios con índices de fertilidad semejantes a los otros diluyentes tradicionales como en los cuadros 3.6.5.3 y .3.6.5.4. (9).

Cuadro 3.6.5.1. Fórmula del diluyente TRIS

TRIS (Hidroxi-metil-amino-metano)	Cantidad
Solución-madre	
Tris	38,10g
Acido cítrico	19,70g
D-fructosa	15,50g
Sulfato de estreptomicina	1,00g
Penicilina G potásica	5 x 10 ⁵ UI
Agua bidestilada c.s.p.	1000 ml
Dilución final (en %)	
Solución- madre	73
Glicerol	7
Yema de huevo fresco	20

Quadro 3.6.5.2. Fórmula del diluyente TES

TES (Hidroxi-metil-amino-etano)	Cantidad
Solución-madre (parte I)	
TES	48,30g
TRIS	11,60g
D-fructosa	2,00g
Sulfato de estreptomicina	2,00g
Penicilina G potásica	1 x 10 ⁶ UI
Agua bidestilada c.s.p.	1000 ml
Solución-madre (parte II)	
Leche descremada	11g
Agua bidestilada	100 ml
Dilución final (en %)	
Solución-madre (parte I)	36.5
Solución-madre (parte II)	36.5
Glicerol	7
Yema de huevo fresco	20

Fuente: Palma G 2008 (3)

Quadro 3.6.5.3 Composición del diluyente CEBRAN I a base de agua de coco.

Solución Stock I	Cantidad
Agua de coco	50 ml
Agua bi-destilada	25 ml
Citrato de sodio 5%	25 ml
Solución Stock II	
Solución stock I	90 ml
Yema de huevo	10 ml
Diluyente Final	



Solución stock II	93,0 ml
Glicerol	7,0 ml
Penicilina G potásica	1,000UI/ml
Sulfato de estreptomicina	2 g/100 ml
(Ajustar o pH para 6,8 –7,0)	
Ajustar osmolaridad a 290 ± 5 mosM	

Cuadro 3.6.5.4 Fórmula del diluyente CEBRAN II a base de Ringer-Lactato

Solución A (500 ml)	Cantidad
D-Fructosa	1,08 g
Penicilina G potásica	70 mg o 1000 UI
Sulfato de estreptomicina	700 mg/ 105 UI
Ringer-Lactato c.s.p	500 ml
Solución B 11% leche descremada diluida en agua a 80° C	
Solución Final	
Solución A	36,5 ml
Solución B	36,5 ml
Glicerol	7,0 ml
Yema de huevo	20,0 ml
(Ajustar el pH para 6,8 7,0)	
Ajustar la osmolaridad a 290 ± 5 mosM	

Fuente: Vale, WG (42).



3.6.6. Dilución.

Posterior a la recolección, el semen debe ser rápidamente pre-diluido con el diluyente mezclado lentamente con la ayuda de una pipeta en un recipiente Erlenmeyer con un volumen de veinte a cuarenta milímetros. Tanto el semen como el diluyente deben estar a temperatura de 37° C, por eso deben estar sumergidos en un baño maría a la misma temperatura. Para evaluar se harán diluciones del semen con concentración de 40 millones de espermatozoides por pajilla en tres tratamientos: 6, 7 y 8 % de glicerol, con el método tradicional de congelación de semen de vacuno (20).

3.6.7. Refrigeración y tiempo de equilibrio.

Después del envasar el semen en las pajuela estas se deben colocar en un refrigerador y sometidas a una curva decreciente de temperatura de 0,25 °C/minuto, hasta alcanzar una temperatura de 5 °C. El tiempo de equilibrio ideal para el semen bufalino es de seis horas, por lo que se debe valorar el semen al final del tiempo de equilibrio antes de continuar con el proceso de congelación. (3).



3.6.8. Congelación.

La congelación del semen debe hacerse inicialmente en vapor de nitrógeno líquido, manteniendo las pajuelas por veinte minutos horizontalmente sobre una rampa localizada a cuatro centímetros por encima del nivel de nitrógeno. Después de este periodo, el material debe ser sumergido directamente en el nitrógeno líquido, distribuidos en los vasos criogénicos y almacenarlas hasta su utilización. (32).

3.6.9. Evaluación del semen después de la descongelación.

Esa descongelación debe ser hecha en agua a 40°C por treinta segundos. Debe presentar una motilidad mínima de 30% y un vigor de 2-3. La evaluación de semen debe hacerse de la misma forma que se hace la del semen recién recolectado a través de la vagina artificial. También es recomendable realizar una evaluación microscópica de las muestras de semen, después de la congelación, principalmente para la observación de las alteraciones acrosómicas de los espermatozoides. Se debe hacer una dilución de semen en una solución de PBS (tampón fosfato

salino), (cuadro 3.6.9.1). La solución puede ser preparada y almacenada a -20°C , de acuerdo con la fórmula abajo descrita.

Cuadro 3.6.9.1. Fórmula de la solución de PBS

Solución del PBS	Contenido
NaCL	8,000g
KCL	0,200g
MgCl₂6H₂O	0,100g
CaCl₂2H₂O	0,100g
Na₂HPO₄	1,150g
KH₂PO₄	0,200g
H₂O bidestilada q.s.p.	1000 ml

Fuente: Fuente: OTERO, MR. (26)

3.7. Inseminación artificial en búfalas.

La primera utilización de semen congelado de la especie bufalina en inseminación artificial (IA) fue en India .Luego continuaron varios trabajos de diferentes países. Sin embargo, la ausencia de un procesamiento tecnológico adecuado del semen en lo que respecta a los diluyentes, concentración de glicerol, tiempo de equilibración, métodos de congelación y la falta de un estándar adecuado condujeron a resultados pobres y variables.(3).

Para realizar con éxito cualquier programa de inseminación artificial es esencial conocer el momento aproximado en que se produce la ovulación; sin embargo, existe información escasa del tema y la existente, generalmente, deriva de un reducido número de observaciones, con resultados contradictorios. En la india tuvieron lugar varios avances exclusivos para el semen bufalino, que derivaron en la aplicación de diluyentes propios para el semen bufalino y la obtención de tasas de nacimiento superiores a 65%. (27).

3.7.1. Síntomas de celo (estro).

El celo está dentro de la fase folicular y podríamos definirlo como el periodo comprendido entre la primera aceptación de monta hasta el primer rechazo. Los cambios en el balance hormonal de progesterona-estrógeno determinan cambios morfológicos asentados en el tracto reproductivo, y comportamentales diferentes del ganado bovino. La frecuencia de los síntomas clínicos del celo es muy variada, dependiendo de la edad, la hora del día, la temperatura y humedad ambiente y estado nutricional. El rango de



duración del celo es muy amplio habiéndose observado celos de cuatro hasta treinta horas. Los búfalos rara vez presentan la actividad homosexual, lo que les distingue de las vaquillas. Búfalos en celo se caracterizan por la necesidad frecuente de orinar en pequeñas cantidades y en corto tiempo, y mugen con más frecuencia y, posiblemente, evitar la cola hacia arriba. Dejarse montar por el macho, y cada monta tiene una duración aproximada de $3,6 \pm 0,7$ segundos. (10).

Las búfalas rara vez presentan la actividad homosexual, lo que les distingue de las vaquillas. Búfalas en celo se caracterizan por la micción frecuente en pequeñas cantidades y períodos cortos de tiempo, y mugen con más frecuencia y, eventualmente permanecen con la cola hacia arriba. Permiten ser montadas por el macho, y cada monta tiene una duración aproximada de $3,6 \pm 0,7$ segundos. Presenta una vulva edematizada y una presencia de moco puede ser observado por descarga vaginal. (24).

El moco eliminado debe ser claro, sin rastros de sangre o pus. Puede ser observado unido a la cola o los corvejones, estar mojado o formando pequeños costras reseca.



Existen diferencias entre los autores sobre la duración del celo en los búfalos. La duración del celo es de 18-24 horas. A pesar de que la monta es considerada por la mayoría de los investigadores como una de las señales más confiables en la detección del estro se considera que la manifestación de moco en la vulva es una señal viable para la detección de celo en búfalas. (32).

Además, la descarga de la vulva es más frecuente cuando los animales están en reposo o en decúbito, esta situación no siempre es común durante los períodos de observación del estro. Como la mayoría de las características estrales no se observa fácilmente en bufalinas y rara vez ocurren al mismo tiempo, la observación del estro en rebaños se ha convertido en una tarea imprecisa. Este hecho puede ser observado especialmente en grandes propiedades bufaleras, que se caracteriza por grandes áreas de pastos, con baja tasa de rotación. Las características de este sistema de producción anticuada y contraproducente imponen limitaciones de manejo. Por lo tanto, las dificultades prácticas para la observación global de las características reproductivas de los búfalos y sus peculiaridades fisiológicas han motivado a los



investigadores a desarrollar más estudios sobre el celo de los búfalos. (13).

Basados en las observaciones de los estros detectados mas la corroboración por el examen clínico y palpación rectal, los principales síntomas de estro en las fúfalas son en orden descendente: dejarse montar por búfalo recelador, hiperemia de la vulva, edema de la vulva, tono uterino descarga de moco, bramidos y comportamiento homosexual con valores de 100%, 78.78%, 77.74%, 76,71%, 45,48%, 31.24% y 20% respectivamente. Las horas de mayor intensidad en la presentación de estros es en la madrugada y se prolonga hasta mediados de la mañana, mientras que las horas de mayor intensidad lumínica son las de menor actividad sexual. El principal síntoma del estro en las búfalas es dejarse montar firme sobre sus cuatro extremidades por la búfala androgenizada o por el recelador; los otros síntomas son edema hiperemia tono uterino, descarga de moco, bramido y comportamiento homosexual pueden o no estar presentes en un verdadero estro. (1).



3.7.2 Métodos de detección del estro.

Los métodos del estro preciso (tiempo de estro) es un pre-requisito para el manejo reproductivo eficiente. Su importancia en un programa exitoso de cruzamiento artificial ha sido enfatizada en numerosos estudios en ganado. La detección precisa del estro es también esencial cuando se practica la inseminación artificial con semen de reproductores selectos. La conducta de los búfalos difiere del ganado (*bos taurus*, *bos indicus*) domestico, en la falta evidente del comportamiento homosexual y la secreción copiosa de moco claro estral; edema de la vulva; incremento en la frecuencia de orina, inquietud, mugir, son evidentes aunque estos no son indicadores confiables del estro: la más confiable es la aceptación del macho. (2).

Los primeros métodos fueron búfalos realizados la vasectomía y equipados con un chiboll como detector de estro dando excelentes resultados como marcador de celos. Otra alternativa es el uso de hembras androgenizada (tiene características de un macho por la aplicación de hormonas masculinas); este estudio tiene un eficacia del 69% a diferencia del ganado bovino que tiene una eficacia



de 74%. El manejo del detector de estros es importante; la relación óptima es de un detector de estro por 30 hembras ciclando. Idealmente un animal puede estar detectando estros en un grupo pero deben irse retirando conforme las hembras entran en celo y el detector quedar solo con el grupo remanente. Es importante rotar los celadores cada 1 o 2 semanas para permitir su descanso sexual. Se han utilizado métodos de detección visual durante las 24 horas del día por el hombre y la aplicación de dispositivos de coloración pero estos métodos no son tan eficaces debido a la ausencia de síntoma homosexual en la hembras por lo que se llego a la conclusión que el mejor método es la monta de la búfala por el recelador. (1).

3.7.3. Sincronización de estros.

Término que se utiliza para indicar la reagrupación de animales con el fin de que presenten el estro a la vez como respuesta inmediata a algún tratamiento. Por lo que se consigue que un grupo de búfalas presenten su celo al mismo tiempo, por lo que se cubre un estrecho margen de tiempo. Este control del ciclo estral facilita el uso de la inseminación artificial y permite una mayor explotación de



reproductores genéticamente superiores. Si se desea llevar a cabo un buen programa de sincronización de celos en determinada explotación bufalina, será muy importante el estado de salud de los animales como son los temas nutricionales las eficiencias de manejo y disponer de un semen de buena calidad genética. (3).

Diferentes protocolos para la sincronización del estro se han utilizado con la finalidad de concentrar los mismos en un periodo de tiempo lo más corto posible manteniendo una buena tasa de concepción. Para la sincronización del estro y la ovulación se requiere controlar la vida media del cuerpo lúteo con prostaglandina ($\text{PGF}_{2\alpha}$), o simular una prolongación de la fase luteal del ciclo mediante el suministro de progestágenos. Un esquema de sincronización de la ovulación utilizando GnRH para la (IA) a tiempo fijo es llamado "Ovsynch". La administración de una dosis de GnRH con un folículo dominante en crecimiento induce la ovulación de éste con la emergencia de una nueva onda folicular aproximadamente 2 días más tarde. El tratamiento con PGF 6 o 7 días después de la GnRH resulta en la ovulación del nuevo folículo dominante, especialmente cuando una segunda inyección de GnRH fue



aplicada a las 48 después de la $\text{PGF}_{2\alpha}$, realizando una inseminación artificial a tiempo fijo entre las 16-18 horas después de la última aplicación de GnRH. (38).

Las prostaglandinas (PGF) sincronizan los celos pero no la ovulación, por ello con la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) los resultados investigados, si bien son variables, no han sido en general satisfactorios. Se pueden obtener muy buenos resultados con varios de los protocolos que contemplan el uso de PGF, pero siempre debe contemplarse la detección de los celos. Los progestágenos son compuestos similares a la progesterona (P_4) y que se han utilizado desde hace varios años. Tanto los primeros dispositivos intravaginales como los implantes de P_4 se utilizaron ya a fines de la década del 70 y durante la década del 80 y luego básicamente por algunos inconvenientes con la fertilidad y el costo de los mismos fueron dejados de lado. Desde un tiempo a esta parte se ha revitalizado su uso y el ajuste realizado a los diversos protocolos, han permitido lograr resultados tan buenos que hacen a la técnica bastante promisor. Los progestágenos disponibles hoy en día en el mercado son dispositivos intravaginales, incluso esponjas e implantes impregnadas



con progesterona. Algunos de ellos permiten un re-uso con la posibilidad de utilizarlos hasta en tres oportunidades. Básicamente estos protocolos tienen una duración de 7 u 8 días bajo la acción de la progesterona y la aplicación de un estrógeno al momento del inicio (Benzoato de estradiol o Valerato de estradiol) y combinado el retiro con la aplicación de una dosis de prostaglandina (PGF) 24 horas antes posteriormente entre las 48 y 56 horas de retirado el dispositivo, se procede a inseminar a búfalas sin detección previa de celo; es sumamente importante cumplir cada uno de los tiempos programados, ya que este tiene su efecto en la dinámica folicular y lógicamente en el porcentaje final de preñez. (24).

3.7.4. Técnicas de inseminación artificial.

La técnica de la inseminación artificial de la hembra bufalina es igual a la de la hembra bovina, o sea de tipo cervical profundo, con deposición del semen en el cuerpo del útero. A diferencia de los bovinos, la inseminación artificial en bubillas debe ser evitada, por el hecho que ellas presentan un cerviz pequeño, lo que puede provocar lesiones con sangrados y bajos índices de fertilidad. (17).

3.7.5. Inseminación artificial con celo detectado

Por los datos sobre la duración de celo y el momento de la ovulación en la búfala, se puede esquematizar un sistema de inseminación artificial. Como existe una gran variación en la duración del celo en las búfalas, se recomienda inseminar en el momento más próximo, posible del final de manifestaciones del celo cuando las hembras ya no aceptan más la monta.(3)

En un estudio realizado durante un programa de inseminación en búfalas, se observaron duraciones variables en las manifestaciones del celo (6-108 horas). Sin embargo, la tasa de gestación se mantuvo relativamente constante y no sufrió la interferencia por la duración de celo. La duración del celo fue estimada calculando el intervalo de tiempo entre la primera aceptación a la monta y su rechazo. Las búfalas que presentaron celo de 12 horas (62,2%) fueron inseminadas conforme la propuesta por Trimberger para bovinos, en la cual las vacas observadas en celo por la mañana se inseminan en la tarde del mismo día y vacas observadas en celo por la tarde deben ser



inseminadas en la mañana siguiente, bien temprano. Sin embargo, las búfalas que presentaron celo con una duración diferente (38,8%) son inseminadas cuando no acepten más la monta. Este tipo de manejo tiende a proporcionar un horario de inseminación al final de la manifestación del celo, cuando la posibilidad de la concepción es más elevada. De esta forma, se pretende eliminar la gran variación observada en la duración del celo en las búfalas. Se recomienda hacer una observación del celo al mediodía hasta aproximadamente el momento de la inseminación al final del celo y mejorar la eficiencia de la detección. (43).

García utilizó programas de sincronización de celos en la amazonia de Brasil con la finalidad de determinar eficiencia de la detección visual del los celos con dos toros receladores evaluando visualmente los diferentes parámetros de aceptación de la monta y presencia de moco en 30 búfalas. Había dos observaciones diarias, a veces en las temperaturas más bajas 8h00-9h00 y 17h00- 18h00. Se usó GnRH (20µg I.M. acetato de buserelina Conceptal®) en el día 0 al 9.



En el día 7 los animales reciben una dosis de prostaglandina (0.150mg I.M. d-doprostendol Prolise®), las observaciones se iniciaron post aplicación de la dosis de prostaglandina. Los intervalos entre aplicación de la prostaglandina y las señales de detección de estro se calcularon en horas. De los 30 búfalos examinados, 76,66% (n = 23) respondió con eficacia al tratamiento para sincronizar el estro. De los 23 animales que en realidad debería presentar expresiones de celo en función del estro sincronización, 56,52% (n = 13) fueron detectados por la presentación de uno o dos características principales visuales de estro 9 ó 39.13% presentaron moco, uno con monta 4.34% y 3 con monta y moco o 56,53% de búfalas que presentaron características visuales de estro. (13).

3.7.6. Protocolos de inseminación a tiempo fijo en búfalas.

La inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) tiene como objetivo la sincronización de la ovulación, permitiendo que la inseminación artificial sea programada para un día y hora específica (tiempo fijo), sin la necesidad de la detección de celo. Esta técnica fue desarrollada en función del hecho de



que los programas de IA presentan baja tasa de servicios debido principalmente a las dificultades en la detección de celo al ser que uno de los principales impedimentos para la expansión de la IA. Este compromiso es aún mayor en los hatos bufalinos, debido a las particularidades del comportamiento reproductivo como fue descrito anteriormente. De esta forma, los programas que pretenden emplear la inseminación artificial a tiempo fijo (IATF), sin la necesidad de detectar de celo, colaboran de sobremanera para aumentar el uso de esta biotecnología. (43).

Estudios se han realizado en establecimientos bufalinos de Argentina entre los meses de mayo a julio (dentro de estación reproductiva), y entre los meses de noviembre a enero (fuera de estación reproductiva). Con la formación de tres grupos, Grupo 1 (G1) y Grupo 2 (G2) dentro de estación reproductiva y el Grupo 3 (G3) fuera de estación reproductiva. Para formar estos grupos los animales fueron seleccionados al azar, el G1 y G2, con 37 hembras adultas y el G3 con 15 hembras adultas, todas de raza Murrah, Mediterránea o cruce de ambas.

En el G1, se realizó un protocolo “Ovsynch”, se colocó el día 0 una dosis de GnRH (Gestar, Over, Argentina). El día



7, se le aplicó una dosis de prostaglandina F2 (Prostal, Over, Argentina) y el día 9, la segunda dosis de GnRH.

En el G2 se utilizó el protocolo “Ovsynch”, más un implante intravaginal de Progesterona (DIV, Syntex, Argentina) el cual se colocó el día 0 junto con el inicio del tratamiento Ovsynch similar al G1, este se extrajo el día 7.(30)

En el G3 se realizó un protocolo “Ovsynch”, más un implante intravaginal de Progesterona igual al tratamiento realizado en el G2, siendo la diferencia la época del año en el cual fue realizada. Los tres grupos fueron inseminados el día 10, aproximadamente 16 Hs. pos aplicación de la segunda dosis de GnRH. El día 18 post inseminación se realizó la resincronización, para ello se le colocó una dosis de GnRH a la totalidad de las hembras inseminadas y se aplicó el dispositivo intravaginal de segundo uso a las hembras del G2 y el día 25 se realizó el diagnóstico precoz de gestación por ultrasonografía identificando a aquellas vacías a las que se les colocaba una dosis de Prostaglandina F2 α y se continuó con el protocolo similar a la primera sincronización, para reinseminar a todas las hembras el día 29 post I.A.(30)



El día 30 posterior a la segunda IA, se realizó el diagnóstico final de gestación. La preñez obtenida en primo inseminación fue de 66,6 % (24/36), 40,5 % (15/37) y 33,3 % (5/15) para los grupos G1, G2 y G3 respectivamente. En tanto que en la segunda inseminación los porcentajes de preñez fueron de 33,3 % (4/12), 40,9 % (9/22) y 0 % (0/10) respectivamente, mientras que el acumulativo de preñez fue, 77,7 % (28/36), 64,9 % (24/37) y 33,3 % (5/15) para el G1, G2 y G3 respectivamente por lo que nos da a conocer que posee una buena acogida por parte de respuesta a los tratamientos en búfalos. En el norte de Corrientes de protocolos Ovsynch, para los años 2002 y 2003, obteniendo un resultado de 50 y 44 % de preñez para primo inseminación respectivamente, en tanto para la resincronización e IATF, los valores fueron de 65 y 71 % respectivamente.(32)

El uso de protocolos de tiempo fijo, sea Ovsynch tradicional o con dispositivos con Progestágenos, unidos a la utilización de ultrasonografía, permite realizar con un número mínimo de movimientos de los animales y de esta manera evita el estrés excesivo y pérdida de la condición corporal por el continuo movimiento que genera una



detección de celo tradicional, logrando en 29 días con 7 movimientos una preñez total del 68,9 %. La única limitante de esta metodología estaría dada por el hecho de elevar mucho el costo por vaca preñada, pues los valores de preñez rondan el 50 %, en caso de utilizar un semen de alta calidad, por lo que no se recomienda en esta situación. (31).

Un programa de inseminación artificial a tiempo fijo a 1,053 búfalas lecheras, sincronizadas con el protocolo Ovsynch. En esta investigación, se evaluó el efecto de la condición corporal al inicio del estudio (escala de 1 a 5), el número de partos, el periodo posparto que se inició en el tratamiento, numero de inseminaciones, y el periodo de inseminación (estación reproductiva favorable de marzo a agosto $n = 967$; época reproductiva desfavorable de septiembre a diciembre $n = 86$), sobre la tasa de concepción. Las 967 búfalas tratadas durante la estación reproductiva favorable presentaron una tasa de concepción promedio de 48,8%. Se observó la influencia de la condición corporal sobre la tasa concepción ($\leq 3,0 = 31,4\%$ a, $n = 223$; $3,5 = 52,9\%$ b, $n = 546$; $\geq 4 = 57,1\%$ b, $n = 198$). Este resultado sugiere que las búfalas deben presentar una



condición corporal $\geq 3,5$ para obtener una buena eficiencia de la inseminación artificial a tiempo fijo.(41)

El número de partos también influyó sobre los resultados. Las hembras primíparas presentaron menor eficiencia que las pluríparas (35,5%; n=138 vs. 51,0%; n=829). Por lo tanto, se debe sincronizar preferiblemente las búfalas multíparas para mejorar la eficacia de este tratamiento. El periodo post-parto en el cual se inició el tratamiento y el número de inseminaciones no afectaron estadísticamente los resultados. Estos datos muestran que la sincronización se puede iniciar entre los 40 y 60 días posparto y que las hembras que no quedan preñadas en la primera inseminación pueden ser tratadas nuevamente.(30)

De esta manera, se puede alcanzar una tasa de preñez de 75% aproximadamente, con dos inseminaciones sincronizadas en un periodo de servicio inferior a cien días. El grupo de animales inseminados fuera de la estación reproductiva (primavera) presentó una menor tasa de concepción (6,9%, n = 86) en relación con el grupo inseminado durante la estación reproductiva favorable (otoño / invierno, el 48,8%; n = 967). Este dato demuestra



que el protocolo que emplea la GnRH / PGF2 α / GnRH (Ovsynch) para la inseminación a tiempo fijo en bufalinos no presenta resultados satisfactorios fuera de la estación reproductiva favorable. Debido a la baja eficiencia del protocolo Ovsynch para IATF fuera de la estación reproductiva y la marcada estacionalidad de los partos que dificulta la producción de leche durante el año, se realizaron estudios con la finalidad de sincronizar el crecimiento folicular y la ovulación con diferentes protocolos. (43).

3.7.7. Sincronización de la ovulación para IATF durante todo el año.

Los búfalos cuando son criados en localidades distantes a la línea ecuatorial, tienen un comportamiento reproductivo influenciado positivamente por la disminución del número de las horas luz en el día (fotoperiodo). Por lo tanto se le considera a la búfala una poliéstrica estacional y reproductora de periodo corto. Para que la búfala cicle todo el año, es necesario la introducción de un programa de inseminación artificial a tiempo fijo en un periodo en que los animales presentan anestro estacional en este caso periodos de mas lluvias y periodos de mas horas luz estos



nuevos protocolos de inseminación a tiempo fijo facilita a las empresas lácteas ya que se puede comercializar sus productos durante todo el año. (36).

Para ello, se utiliza tratamientos que asocian dispositivos intravaginales o implantes auriculares conteniendo progesterona y progestágenos con PGF2 α y estrógenos con la finalidad de hacer viable la IATF en búfalas durante todo el año. Así, fue estudiada la dinámica folicular durante los tratamientos con dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR®) y con implantes auriculares de Norgestomet (CRESTAR®). Se encontró una tasa de ovulación baja de 40% para las búfalas sincronizadas con CIDR® y el 20% de búfalas sincronizadas con CRESTAR®.

En ese mismo experimento, el intervalo transcurrido para el inicio de una nueva onda de crecimiento folicular fue inferior en las búfalas tratadas con CIDR® ($3,5 \pm 0,4$ días) que las tratadas con CRESTAR® ($6,3 \pm 0,2$ días), probablemente a la mayor permanencia en la circulación de valerato de estradiol, aplicado juntamente con la colocación del implante (día cero) en los animales sincronizados con



CRESTAR®. El intervalo entre la extracción del dispositivo y la ovulación fue de $62,0 \pm 5,6$ horas para el grupo CIDR® y $64,0 \pm 0,0$ horas para el grupo CRESTAR®.(42).

En otra investigación, llevada a cabo también en la estación reproductiva desfavorable , se verificó que las búfalas que recibieron 1,0 mg de Benzoato de estradiol (BE) asociado al momento de la inserción de CIDR® no ovularon al final del tratamiento y aquellas que recibieron 2,5 mg y 5,0 mg de BE presentaron bajas tasas de ovulación (20%). Cuando las búfalas fueron inseminadas a tiempo fijo después de la administración de 0,5 mg (G1) y 1,0 mg (G2) de BE, 24 horas después de retirado el CIDR®, las tasas de preñez fueron del 6,7% (G1; 2/30) y de 10,0% (G2; 3/30). El grupo de control (Ovsynch) tampoco presentó resultados satisfactorios (10,3%; 03/29). (26).

Con el objetivo de mejorar la respuesta a los tratamientos con progesterona, se llevó a cabo otro experimento administrando Gonadotropina Conriónica Equina (eCG) en el momento de la extracción del dispositivo intravaginal de progesterona (CIDR), en un intento de dar soporte gonadotrófico al folículo dominante presente al final del



tratamiento (acción FSH y LH de la eCG) y aumentar las tasas de crecimiento folicular y de la ovulación. Para sincronizar la ovulación se optó por la aplicación de Gonadotropina Conrionica humana (hCG), dos días después de la administración de eCG, los animales se inseminaron 16 horas después. Con ese protocolo, se observaron tasas de concepción satisfactorias (55%) a la IATF, aún durante la testación de reproducción desfavorable. Por lo tanto, los resultados presentados sugieren que el tratamiento con eCG en el momento de la extracción de los dispositivos de P4 aumenta las tasas de ovulación y preñez en hembras bufalinas en la estación desfavorable. (3).

3.8. Superovulación en la hembra bufalina.

3.8.1. Métodos de superovulación.

El objetivo de la superovulación y de la transferencia embrionaria es obtener grandes números de embriones con elevado potencial de preñez. En función de ello se realizaron estudios ultra-sonográficos de las estructuras ováricas durante el tratamiento superovulatorio a fin de evaluar la respuesta folicular en la especie bovina y, en



base a esos resultados, fue posible orientar mejor los procedimientos de superovulación y colecta de embriones. No obstante, en la literatura existen escasas informaciones sobre la foliculogénesis y las inter-relaciones de las estructuras ováricas durante el proceso de superovulación en la especie bufalina. Para analizar el potencial superovulatorio de esta especie, son necesarias evaluaciones precisas de la respuesta folicular, de la tasa de ovulación, de la formación de cuerpos lúteos y de la tasa de recuperación de embriones. Tales evaluaciones son relevantes ya que en los bufalinos, el desarrollo embrionario ocurre mas rápidamente, lo que implica la recuperación de embriones entre el 5° y el 6° día post-estro, cuando los cuerpos lúteos son pequeños y presentan consistencia blanda. Asimismo, la ultrasonografía presenta mayor importancia en la evaluación de las estructuras ováricas, cuando se la correlaciona con la palpación, y principalmente en animales superovulados, en los cuales es común estimar erróneamente la cantidad de estructuras ováricas por palpación rectal. (31).

En un estudio se evaluó la respuesta al tratamiento superovulatorio con dosis única de FSH y eCG como



alternativa en los programas de T.E en la especie bufalina y la tasa de recuperación de embriones viables en búfalas. Este trabajo se realizó entre los meses de agosto a diciembre al considerarse este período como el pico de crianza. Los animales se superovularon con FSH Checa (Foliotropin) en dosis única de 400 mg ($n=9$) y 3000 UI de gonadotropina sérica cubana (eCG LABIOFAM) ($n=7$). A las 48 horas se le aplicó una dosis de 4 ml de prostaglandina (F2alpha). La recolección de los embriones se realizó 5-6 días después del celo. Previamente se practicó un diagnóstico rectal para comprobar la respuesta al tratamiento superovulatorio mediante el conteo del número de cuerpos lúteos. Cada animal recibió 1ml de Rompún vía IM (100mg) y 4 ml de lidocaína al 2 % vía epidural. La respuesta obtenida con la dosis única de FSH fue superior ($P 0,05$) a la obtenida con eCG en cuanto al porcentaje de respuesta superovulatoria (100 vs 42.8), total de embriones recuperados (40 vs 2); embriones por donante (4.4 vs 0.6); embriones transferibles por donante (4.2 vs 0) y total de embriones transferibles (14 vs 0). A partir de estos resultados se puede concluir que la superovulación con dosis única de FSH permite obtener mejores resultados que



cuando se emplea la eCG, con una alta tasa de recuperación de embriones en esta especie. (14).

3.9. Transferencia de embriones.

El programa de transferencia embrionaria puede ser desarrollado en centros de transferencia o directamente en el establecimiento donde se encuentran las donantes primero se comienza con la selección de las donantes y finaliza con el diagnóstico de preñes efectuados a los 60 días post-transferencia. En general, la selección de donantes es responsabilidad del productor y al profesional le queda la opción de aceptarlas o no después de:

- Efectuar un anamnesis exhaustiva, considerando especialmente los antecedentes de superovulación.
- Llevar a cabo una revisión clínica donde se considere el estado general y de los órganos genitales en particular. (3).

La transferencia de embriones se ha aplicado ampliamente en todo el mundo. Esta tecnología aumenta el número de descendencia obtenida de donantes de alto valor genético y



se utiliza para difundir la genética deseable en todo el mundo. Sin embargo, la transferencia de embrión búfalo presente una baja eficiencia en comparación con el bovino, haciendo difícil el uso de esta técnica importante por los criadores de búfalo. (38).

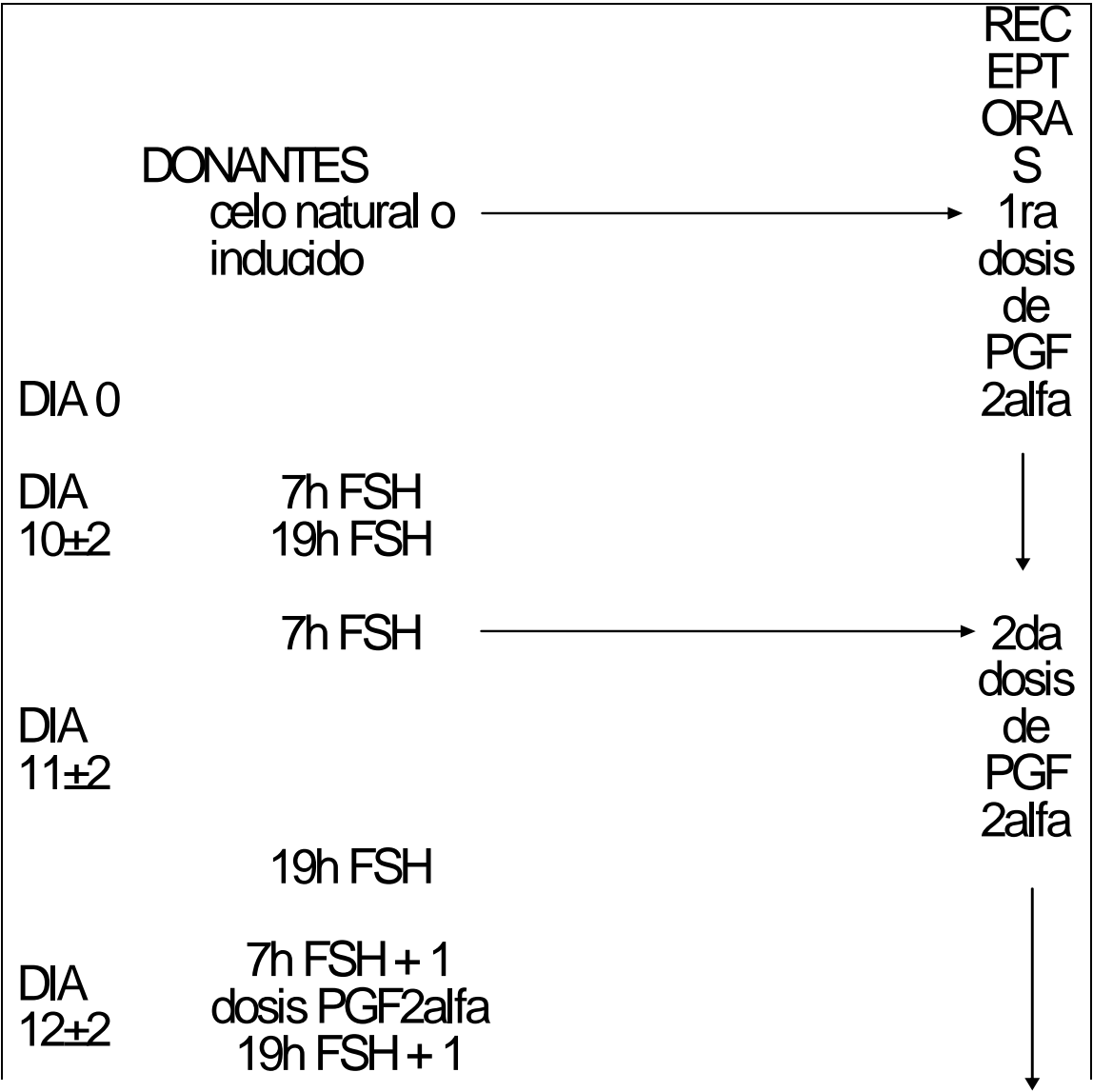
Esta necesidad se ve atenuada cuando se dispone de equipos de congelación que permiten conservar los embriones cuando su número es mayor al de receptoras sincronizadas y transferirlos, cuando ocurre la situación inversa. Para ingresar a un programa de transferencia de embriones es conveniente que las donantes reúnan las siguientes condiciones:

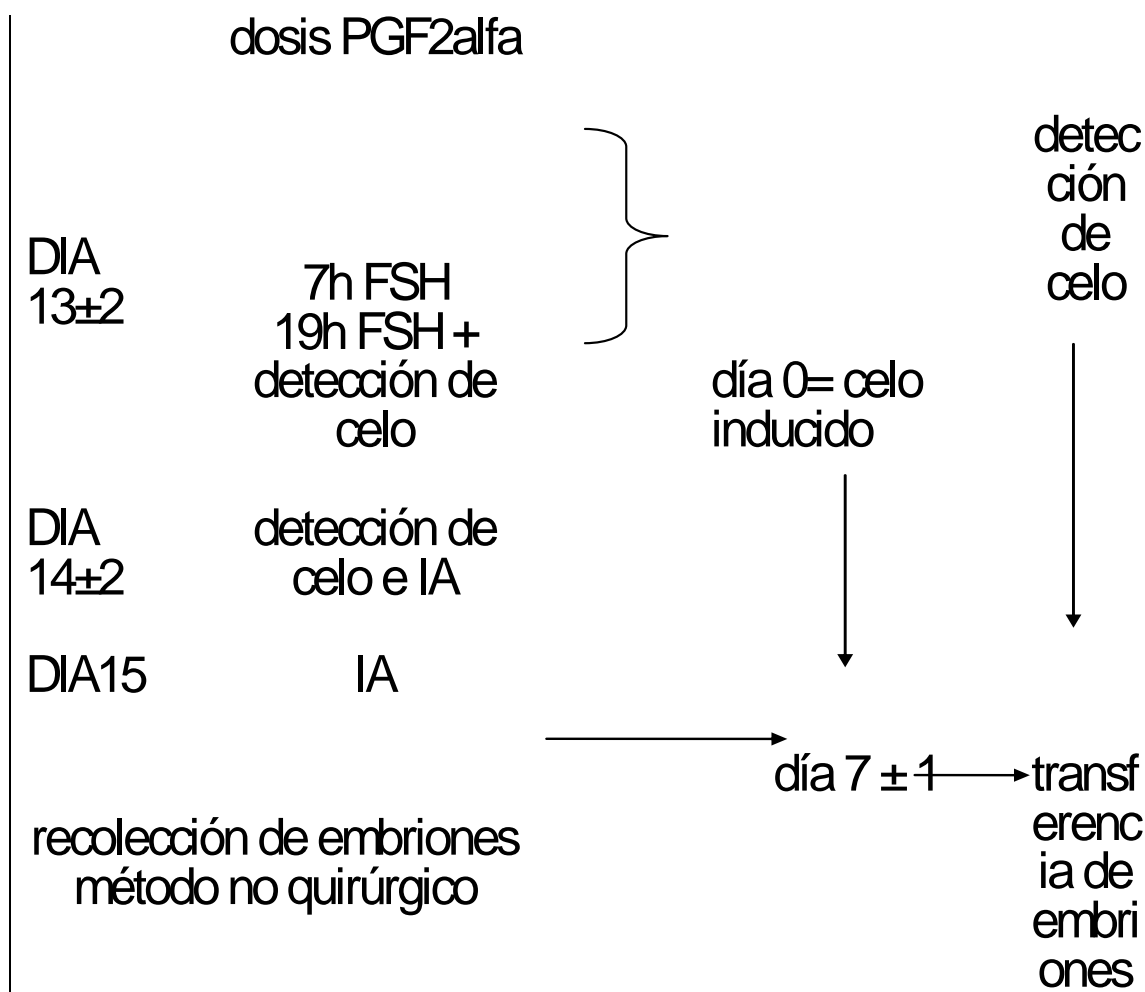
- Tengan un periodo post-parto no menor a 60 días, habiendo registrado un ciclo previo de duración normal.
- Se encuentren destetadas.
- Haya transcurrido más de 50 días de un tratamiento superovulatorio anterior.(2)



3.9.1. Sincronización de celos en hembras donantes para transferencia de embriones.

CUADRO 3.9.1: Programa de transferencia embrionaria donde la sincronización de celos en donantes y receptoras se lleva a cabo con PGF2 alfa y la inducción a la superovulación con FSH.





Fuente: Pellerano GS. (31).

Los dispositivos intravaginales que se utilizan para búfalas se han realizado con los mismos de los bovinos e incluyen PRID®, CIDR®, DIB y esponjas. Los implantes SyncromateB® y Crestar®. La progesterona también puede ser inyectada diariamente durante un periodo de 9 días.

En el cuadro 3.9.2 se presenta un programa de transferencia de embriones donde la sincronización de



celos en las donantes se lleva a cabo con estrógenos combinados con progesterona o progestágenos.

CUADRO 3.9.2. Programas de transferencia embrionaria donde la sincronización de celos en las donantes se lleva a cabo con dispositivos intravaginales o con implantes subcutáneos conteniendo progesterona o progestágenos y la inducción a la superovulación con FSH.

DIA 0	colocación del dispositivo intravaginal + 2,5 a 5,0mg 17beta estradiol+50 a 100mg progesterona ambos vía intramuscular
DIA 4	7h FSH 19h FSH
DIA 5	7h FSH 19h FSH
DIA 6	7h FSH + 1 dosis PGF2alfa retiro del dispositivo o implante 19h FSH + 1 dosis PGF2alfa
DIA 7	7h FSH 19h FSH + detección de celo
DIA 8	detección de celo e IA
DIA 9	IA



DIA 15	recolección de embriones, método no quirúrgico
--------	--

Fuente: Palma GA. (3).

3.9.2. Sincronización de celos en hembras receptoras en transferencia de embriones.

La transferencia de embriones puede efectuarse indistintamente sobre celo natural o inducido. El celo de las receptoras deberá tener una sincronización no mayor a $\pm 48h$ con el de la donante, resultado ideal que no sea mayor a ± 24 horas. Cuando se efectúa una sola dosis de PGF2 alfa a hembras seleccionadas mediante palpación transrectal por poseer un cuerpo lúteo es necesario reservar un número mayor de receptoras por donante porque dicha práctica tiene una eficacia que varía entre el 71% y el 96%.

En general considerando que el promedio de embriones transferibles por cada donante es alrededor de 5, se sincronizan 8 receptoras por donante dado que algunas deben ser descartadas antes de efectuar la transferencia



por razones diversas: quistes ováricos, celos anovulatorios, imposibilidad de cateterizar el cérvix etc.

La sincronización de las receptoras puede efectuarse también utilizando dispositivos o implantes ya mencionados en los temas anteriores por haber una menor incidencia de quistes ováricos.(25).



3.9.3. Plantilla de donantes.

Donante N°
Procedencia:
Raza:
Edad:
Peso actual:

ANAMNESIS:

Fecha ultima de participación:
Comentarios:

Número de partos	
Fecha del último parto:	Tipo de parto:
Para la última gestación	1. Normal
¿cuántos servicios recibió?:	2. Distócico
Ha sido repetidora?:	3. Ternero muerto
Fecha ultima de celo:	4. Cesárea
Fecha del último servicio:	

REVISIÓN CLÍNICA

Condición Corporal:
Estado de los órganos genitales en general:
Estado de los ovarios en particular:

	Ovario derecho	Ovario izquierdo
Tamaño		
Folículos		



Cuerpos lúteos		
-------------------	--	--

Semen que se utilizara:

Prueba de enhebrado con pistola de inseminación artificial:

Fecha:

Resultado: 1. Se enhebra sin dificultad
 2. Se enhebra con dificultad
 3. No se enhebra.

ANTECEDENTES DE SUPEROVULACION.

Primer tratamiento

Fecha:

Hormona:

Dosis:

Total de ovocitos y embriones

Embriones transferibles:

Preñeces:

Terneros nacidos vivos:

Semen utilizado:

Segundo tratamiento

Fecha:

Hormona:

Dosis:

Total de ovocitos

Y embriones:

Embriones transferibles:

Preñeces:

Terneros nacidos vivos:

Semen utilizado:

Tercer tratamiento Y Cuarto tratamiento se repiten igual
que el primer y segundo tratamiento



3.9.4. Protocolo de superovulación y transferencia de embriones.

Como las hembras bufalinas son en su mayoría subfértiles. Debido a su alto grado de consanguinidad, las mismas presentan altos porcentajes de ovarios fibrosos. Por ello se aconseja seguir el siguiente protocolo:

- a) Revisar a las primeras horas de la mañana la capacidad ovárica y descartar las que presentan alto grado de fibrosis u ovarios con tamaño menores a 1 cm.
- b) Implantar un dispositivo vaginal que contiene 1g de progesterona, e inyectar 100 mg de Progesterona por vía intramuscular (5 ml de Progeron Burnet)
- c) Al día siguiente, a las 32 horas de aplicado el dispositivo vaginal, inyectar 3 ml de Estradiol Burnet por vía intramuscular.
- d) A los 4 días y medio de esta inyección, iniciar el tratamiento de superovulación con un producto denominado Foltropin (FSH), de la siguiente forma:
1° día 4ml a las 08:00 horas y 4 ml a las 20:00 horas
2° día 3ml a las 08:00 horas y 3 ml a las 20:00 horas



3° día 2ml de Foltropin junto a 2 ml de Clorprostenol (150 mcg de Biggland) a las 08:00 horas, y a las 20:00 horas 2 ml de Foltropin y al mismo momento extraer el implante.

4° día 1ml a las 08:00 horas y 1 ml a las 20:00 horas.

A las 60 horas de extraído el implante, inseminar con dos dosis de semen, repitiendo la inseminación cada 8 horas hasta un total de tres inseminaciones. A los 5 días y medio de la última inseminación, realizar el lavaje uterino con 800ml de una solución de Dulbeco Modificado, con el 1% de suero inactivado de un novillo bufalino. (se inactiva en baño maría a 56° durante 30 minutos) Los embriones obtenidos, generalmente no más de tres, se van a encontrar en grado de Blastocisto tardío donde se verá el blastocelo perfectamente desarrollado. (35)



Plantilla de transferencia y superovulación.

Donante Nº.....

Procedencia:

Raza:

Edad:

Fecha ultimo de celo:.....

Observaciones:

.....

Superovulación:

Hormona:

Dilución:

Esquema de tratamiento:

Fecha de celo:

Inseminación Artificial (IA):

1º IA:

2º IA:

Observaciones:

.....

Tacto examen rectal ultrasonográfico previo:

	Ovario derecho	Ovario izquierdo
Folículos		
Cuerpos lúteos		

Recolección de embriones:

Día..... Hora.....



Observaciones:

.....
.....

Evaluación morfológica:

Embriones viables:

Calificación:

Embriones anormales:

.....

Ovocitos sin fecundar:

Total recolectado:

Celo post- superovulación:.....

Fuente: Palma GA. (3).

Firma del profesional.

4. CONCLUSIONES.

En base a los objetivos planteados los datos obtenidos en esta monografía en cuanto a las características fisiológicas y reproductivas de la hembra bufalina presentan características similares en similitud a los bovinos con pequeñas diferencias en cuanto al tamaño y a su forma siendo menores la especie bufalina en estudio.

Las estructuras genitales de los machos bufalinos como son el tamaño de los testículos pene y circunferencia escrotal son de menor tamaño en comparación a los bovinos.

Los parámetros reproductivos de la especie son variables ya que esta especie es una especie estacional dependiendo de la ubicación de la línea ecuatorial y la cantidad de luminosidad del día concluyendo en la aplicación de programas de reproducción con las biotecnologías sincronización de celo.

En cuanto a la criopreservación de semen bufalino la aplicación de diluyentes nuevos como son el TRIS y otro



como el agua de coco para su dilución si son viables para esta técnica este método utiliza los mismos pasos de congelación, descongelación y comprobación de resultados como se utiliza en la especie bovina.

Los síntomas de celo en esta especie se manifiestan con mayor acentuación en la descarga de moco vulvar y la casi manifestación de homosexualidad entre la especie en hatos por lo que dificulta la detección de celo por lo que se emplean programas de inseminación artificial.

la inseminación artificial es una técnica que se usa a semejanza a la especie bovina los mejores programas utilizados para inseminación artificial a tiempo fijo son los programas Ovsynch y la aplicación de las hormonas utilizadas en bovinos con la utilización de la hormona eGC (gonado tropina coriónica equina) obteniendo tasas de preñes de 50% de eficacia.

La superovulación se ve atenuada en comparación al bovino ya que existen pocos estudios y también debido a la rapidez en la que se presenta el desarrollo embrionario.



El método de transferencia de embriones en uno de los métodos más actualizados en cuanto a biotecnologías aplicadas a las especies bufalinas los estudios realizados se ha basado en comparación con los de la especie bovina por lo que se necesita de más estudios con mayor número de muestras.

Se presenta un método de sincronización de celo para hembras donantes y receptoras en la transferencia de embriones por lo que se aborda este tema luego de la transferencia de embriones y ha tenido resultados satisfactorios

En esta monografía se presentan platillas y protocolos para la elaboración de programas de transferencia y superovulación que sería aplicables también para la especie bufalina.

El poco conocimiento que existe en cuanto a las nuevas biotecnologías aplicadas al ganado bufalino hace que nuevos investigadores realicen nuevos experimentos concisos para la explotación extensiva del ganado.



El búfalo es una nueva opción en ganadería por lo que se incentiva a los estudiantes y profesores a proporcionar estos temas de gran interés para la introducción de esta especie en nuestro país.



5. BIBLIOGRAFÍA.

1. Hincapié JJ .Reproducción del Búfalo de agua. Honduras: Zamorano: 2008.
2. Hincapié JJ, Pipaon EC. Cría y manejo del Búfalo de agua. Honduras: Zamorano: 2008.
3. Palma GA Biotecnologías de la reproducción. 2da ed. St. Mar del Plata. 2008.

• REFERENCIAS DE LA WEB.

4. ABCB. [Internet] Brasil: Asociación De Criadores De Búfalos. 2012 .Características de las razas. Brasil. [Citado 2012 julio12] Disponible en: <http://www.bufalo.com.br/racas.html>
5. Akhtar MS. Reproducción Word buffalo Efficacy of GnRH, Tratamiento Anoestrus in Nili-Ravi Buffalo. [Internet].2010 833-836p [citado 2012 julio12]; [aprox 3p]. Disponible en: <http://vet.unne.edu.ar/revista/21-suple-1/10a%20bufalos.pdf>



6. AREAS Y et al. INDICADORES DEL DESARROLLO CORPORAL Y TESTICULAR EN MACHOS BUFFALYPSO A LOS 24 MESES DE EDADEN .CUBA. Ciencia y Tecnología Ganadera [Internet]. 2009. [citado 2012 julio12] p. 81-84. v(3) [aprox 4p.].Disponible en: http://bva.fao.cu/pub_doc/CIMAGT/CIMAGTVOL3%202009/Rev.Vol.3%20No.2,%202009/Vol.3-No.2-09Yaritza.pdf
7. Barreto H. Estudio de algunos indicadores reproductivos en búfalas F1Río x Pantano en la Región Central de Cuba. Redvet. [Internet]. 11 Noviembre 2010[citado 2012 julio12] pp. 1-10 (11) [aprox 10p.].Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n111110/111011.pdf>
8. CERVANTES AE et al. VIABILIDAD DE LOS SISTEMAS BUFALINOS EN COLOMBIA. Dialnet. [Internet]. 2010[citado 2012 julio12] pp. 215-224 (1) [aprox 10p.].Disponible en: <http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3268865>
9. Chinnaiya GP. Congelabilidad de semen en Buffalo diferentes Extensores. [Internet]. 13 mayo 2010. [citado 2012 julio12] p. 563-568. v(27) [aprox 5p.].Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1439-0442.1980.tb01873.x/references>



10. Crudeli GÁ. Fisiología reproductiva del búfalo. Producción en Argentina .Tecnología en Marcha, [Internet]. 2011 [citado 2012 julio12]; 74-81 (5): [aprox 8p]. Disponible en: http://www.tec.ac.cr/sitios/Vicerrectoria/vie/editorial_tecnologica/Revista_Tecnologia_Marcha/pdf/Tecnologia_en_Marcha_24-5/74-81.pdf
11. Frares LF. Uso do acetato de deslorelina como inductor da ovulação na inseminação artificial em tempo fixo em búfalas durante a estação reprodutiva desfavorável .CURITIBA [Internet]. 2010 15-35 p. [citado 2012 julio12]; [aprox 9p]. Disponible en: <http://dspace.c3sl.ufpr.br/dspace/bitstream/handle/1884/26027/Dissertacao%20Luciana%20Ferri%20Frares.pdf?sequence=1>
12. Garcia A.R. Influencia de factores ambientais sobre las características reproductivas de búfalos do rio (Bubalus bubalis) [Internet] 2006. [Citado 2012 julio12]; [aprox 1p]. Disponible en: http://www.cienciaanimal.ufpa.br/CA_selecao/M/2010/biblio/Prod/reproduc/GARCIA_2006.pdf
13. García AR. EFICIÊNCIA DA DETECÇÃO DE ESTROS EM FÊMEAS BUBALINAS (Bubalus bubalis) CRIADAS NA AMAZÔNIA [Internet]. 2006 1-6pp. [Citado 2012 julio12]; [aprox 5p]. Disponible en:



http://www.cienciaanimal.ufpa.br/CA_selecao/M/2010/biblio/Prod/reproduc/GARCIAetal2006.pdf

14. García, J.L. Superovulación en búfalas de río tratadas con dosis única de FSH y eCG. [Internet]. 2007. [citado 2012 julio12] p. 71-72. v(1) [aprox 1p.]. Disponible en: <http://agris.fao.org/agrissearch/search/display.do?f=2010/CU/CU1012.xml;CU2010B00012>
15. Gomes RA Eficiencia reproductiva de búfalos. Embrapa. [Internet]. 2007 15 p. [citado 2012 julio12]; [aprox 1p]. Disponible en: http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/19410/1/doc123_bufalos.pdf
16. Gonzalo JA. Biotecnología Reproductiva aplicada al búfalo de Agua. Inseminación Artificial. [Internet]. 4 de julio 2008. [Citado 2012 julio12] ; [aprox 1p]. Disponible en: <http://juangonzaloangel.info/juan-gonzalo-angel-restrepo-12/>
17. Huanca LW. Inseminación artificial a tiempo fijo en vacas lecheras. [Internet]. Jul. /dic. 2001 161-163(12). [Citado 2012 julio12] [Aprox. 3p.]. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S160991172001000200020&lng=es&nrm=iso.
18. Manik RS, Palta P, Singla SK, Sharma V. Foliculogénesis en búfalos (*Bubalus Bubalis*): La fertilidad y el Desarrollo [Internet]. 2002 315-325 (14)



[citado 2012 julio12] [aprox 10p.]. Disponible en:
<http://www.publish.csiro.au/nid/44/display/citation/paper/RD01126.htm>

19. MARTIN, I. et al. Ovarian follicular dynamic during early pregnancy in buffalo *Bubalus bubalis* heifers [Internet]. Marzo. 2008[citado 2012 julio12] p. 121-127 (1) [aprox 7p.].Disponible en:
<http://www.revistas.ufg.br/index.php/vet/article/view/442/3435>
20. Marulanda AJ. Determinación de la concentración optima de glicerol para la dilución y congelación de semen de búfalo de agua. Rev Col Cien Pec. [Internet] 2007. [citado 2012 julio12] p. 537. v(1) [aprox 1p.].Disponible en:
<http://rocp.udea.edu.co/index.php/ojs/article/viewFile/311/308>
21. McGill, DM ; Warriach, HM ; Bush, RD ; Wynn, PC. La mejora de la productividad del ganado lechero y búfalos en las granjas lecheras pequeños propietarios en Pakistán [Internet].2011 [citado 2012 julio12] pp 115-116. (1) [aprox 1p.].Disponible en:
<http://www.cabdirect.org/abstracts/20113387158.html;jsessionid=23643B905A20744028D87F8DD45A0B3D>
22. Monitel N S. Algunos aspectos reproductivos e inseminación artificial en baufalas X seminario de pastos y forrajes universidad de Zulia Maracaibo [Internet]. 2006



- 174 -186p. [Citado 2012 julio12]; [aprox 12p]. Disponible en: http://www.produccion-animal.com.ar/inseminacion_artificial/156-bufalas.pdf
23. Montes, I et al. Desarrollo corporal y testicular del búfalo hasta los 11 Meses de nacidos en cuba. [Internet]. 2007. [citado 2012 julio12] p. 35-40. v(1) [aprox 5p.].Disponible en: http://bva.fao.cu/pub_doc/CIMAGT/PDF/5.pdf
24. Montiel NS. ALGUNOS ASPECTOS REPRODUCTIVOS E INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN BÚFALAS. [Internet] 2012 1-12 pp. [Citado 2012 julio12] [aprox. 10p]. Disponible en: <http://www.engormix.com/MA-ganaderia-carne/genetica/foros/algunos-aspectos-reproductivos-inseminacion-t24339/103-p0.htm>
25. Orellana, JC. Peralta, M. Manual de procedimientos para el laboratorio de transferencia de embriones en bovinos. [Internet]. 2007. [citado 2012 julio12] p. 1-41. v(1) [aprox 1p.].Disponible en: <http://mvz.unipaz.edu.co/textos/manuales/t2520.pdf>
26. OTERO MR .Evaluación de la motilidad y vialidad del semen bovino mediante el uso de sistemas casa y citometría de flujo: identificación de Subpoblaciones espermáticas. [Internet]. 2008. [citado 2012 julio12] p. 11-15. v(2) [aprox 5p.].Disponible en: http://dspace.usc.es/bitstream/10347/2406/1/9788497509886_content.pdf



27. Padrón, E. et al. Inseminación artificial con celo natural e inducido en búfalas de río. ACPA. [Internet]. 2008. [citado 2012 julio12] p. 17-18. v(2) [aprox 2p.]. Disponible en:
<http://www.actaf.co.cu/revistas/Revista%20ACPA/2008/REVISTA%2002/10%20INSEMINACION.pdf>
28. Patiño E. El Búfalo. Leche Bubalina: Producción Mundial. Comparación con la Leche Bovina. Alimentos Funcionales Derivados de la Leche. [Internet]. 2008 [citado 2012 julio12] 1pp. [aprox 1p.]. Disponible en:
http://www.produccion-animal.com.ar/informacion_tecnica/razas_de_bufalos/65-bufalo.pdf
29. Patiño EM. EL BÚFALO: CLASIFICACIÓN, ORIGEN Y SITUACIÓN EN AMÉRICA. [Internet]. 2002 2- 7 (4) [citado 2012 julio12] [aprox. 6p.]. Disponible en:
<http://scienti.colciencias.gov.co:8084/publindex/docs/articulos/1657-6772/3/44.pdf>
30. Patiño EM. Producción y calidad de la leche bufalina Tecnología en Marcha [Internet]. 2011 25-35(5) [citado 2012 julio12] [aprox. 10p.]. Disponible en:
http://www.tec.ac.cr/sitios/Vicerrectoria/vie/editorial_tecnologica/Revista_Tecnologia_Marcha/pdf/Tecnologia_e_n_Marcha_24-5/25-35.pdf



31. Pellerano GS. Comparación de diferentes protocolos de sincronización e inseminación artificial a tiempo fijo dentro y fuera de la estación de servicio en búfalas en el NEA [Internet].2005 1-4p. [Citado 2012 julio12]; [aprox 4p]. Disponible en: http://www.unne.edu.ar/Web/cyt/com2005/4Veterinaria/V050_Falta%20Corregir.pdf
32. Pérez AY. El búfalo: Una opción de la ganadería. REDVET. [Internet]. Agosto2007 1-23 (8) [citado 2012 julio12]; [aprox 23p]. Disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/636/63612734014.pdf>
33. Prada GA, Crespo JC. Determinación taxonómica de hemoparásitos y su prevalencia en búfalos de agua (*Bubalus bubalis*). [Internet]. 2006 junio [citado 2012 julio12] 67-73 (1) [aprox 6 p.].Disponible en: <http://scienti.colciencias.gov.co:8084/publindex/docs/articulos/1657-6772/3/44.pdf>
34. Producción animal [Internet] Argentina: La Asociación 2012. BÚFALO DE AGUA: RAZAS [actualizado14 de julio 2012; citado 2012 julio12] [aprox. 2pantallas.]. Disponible en: <http://www.produccion-animal.com.ar/>
35. Producción animal [Internet] Argentina: La Asociación 2012. BÚFALOS, CONGELACIÓN DE EMBRIONES [actualizado14 de julio 2012; citado 2012 julio12] [aprox. 2pantallas.]. Disponible en: <http://www.produccion-animal.com.ar/>



36. Reyes H. Evaluación de un agroecosistema de pastizal natural para la producción de leche con búfalas en suelos salinos. [Internet] 2008 [citado 2012 julio12]. Disponible en:
<http://biblioteca.ihatuey.cu/links/pdf/tesis/tesism/iranreyes.pdf>
37. Rivadeneira WA. Comparación de la conducta alimentaria entre búfalos de río y bovinos bajo sistema de alimentación “ad libitum” y en confinamiento total [Internet]. 2007 [citado 2012 julio12] [aprox. 3p.]. Disponible en:
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/1759>
38. Sartori R. et al. Recent advances in ovulation synchronization and superovulation in dairy cattle. CBRA. [Internet]. 2008. [citado 2012 julio12] p. 194. v(2) [aprox 1p.]. Disponible en:
<http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/animalreproduction/issues/download/v6n1/pag%20194-362.pdf>
39. Senasa. El búfalo. AACB [Internet]. 2005 1p. [Citado 2012 julio12]; [aprox 1p]. Disponible en:
http://www.produccionanimal.com.ar/informacion_tecnica/razas_de_bufalos/02-bufalos_senasa.htm
40. Valdés MA. Antecedentes y perspectivas de la actividad bufalina en el trópico. Tecnología en Marcha.



- [Internet].2011 [citado 2012 julio12] 121-136 pp. (5)
[aprox 5p.].Disponible en:
http://www.tecdigital.itcr.ac.cr:8000/revistas/index.php/tec_marcha/article/view/97
41. VALE, W.G et al. Seleção e avaliação andrológica do reprodutor bubalino. CBRA. [Internet]. Junio 2008. [citado 2012 julio12] pp. 141-155 (2) [aprox 15p.].Disponible en:
<http://www.cbra.org.br/pages/publicacoes/rbra/download/RB157%20Vale%20pag141-155.pdf>
42. Vale, William G. Avances Biotecnológicos en reproducción de búfalos. Tecnología en Marcha. [Internet]. 2011. 89-104p. [Citado 2012 julio12]; [aprox 15p]. Disponible en: http://www.tecdigital.itcr.ac.cr:8000/revistas/index.php/tec_marcha/article/view/95
43. Vale, William G. Reproducción en hembras bufalinas: inseminación artificial y reproducción asistida. Tecnología en Marcha. [Internet]. 2011 5-18p [citado 2012 julio12]; [aprox 13p]. Disponible en:
http://www.tec.ac.cr/sitios/Vicerrectoria/vie/editorial_tecnologica/Revista_Tecnologia_Marcha/pdf/Tecnologia_en_Marcha_24-5/5-18.pdf
44. Vejarano OA. Et al. Diagnóstico de la capacidad reproductiva de toros en Ganaderías de tres municipios del alto magdalena.DIALNET. [Internet]. 2005. [citado 2012 julio12] p. 648-662. v(2) [aprox 14p.].Disponible en:



<http://apps.unicordoba.edu.co/revistas/revistamvz/mvz-102/102-7.pdf>

45. Vergara M. Parámetros Genéticos para Características Reproductivas en una Población de Búfalos (*Bubalus bubalis* Artiodactyla, Bovidae) en el Magdalena Medio Colombiano. Scielo. [Internet]. Febrero 7 de 2011 [citado 2012 julio12] pp. 5587-5594 v (2) [aprox 7 p.]. Disponible en:
<http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v63n2/a12v63n01.pdf>

6. ANEXOS.

Figura numero 6.1 Raza de búfalo Mediterráneo (ABCB) (4).



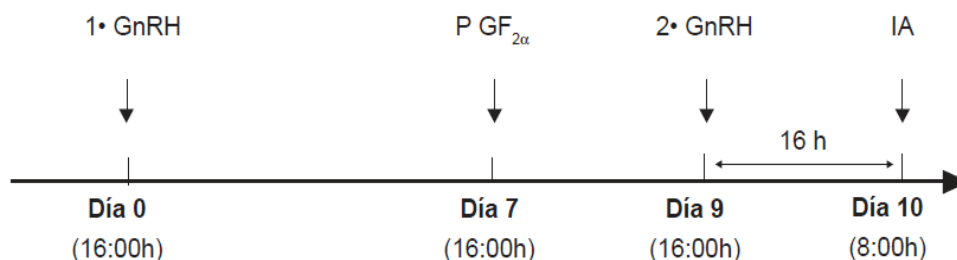
Figura numero 6.2 Raza de búfalo Murrah.(ABCB) (4).



Figura número 6.3 Raza de búfalo Jafarabadi (ABCB) (4).

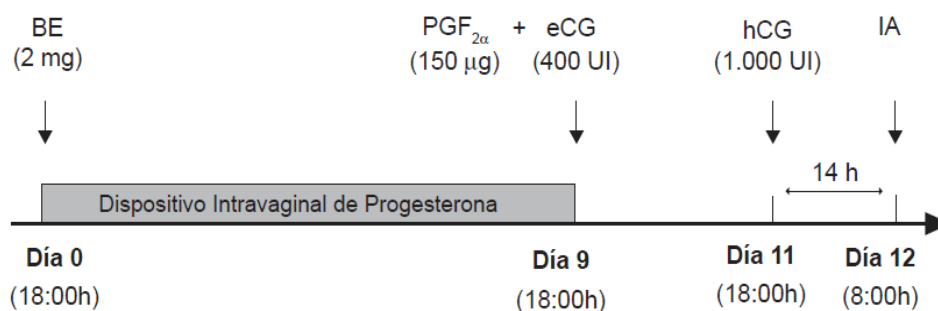


Figura número 6.4 Protocolo de inseminación artificial a tiempo fijo con sincronización de la ovulación en bufalinos durante la estación reproductiva favorable.



Fuente: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0044-59672008000300001

Figura 6.5 Protocolo de inseminación a tiempo fijo con sincronización de la ovulación en bufalinos durante la estación reproductiva desfavorable.



Fuente: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0044-59672008000300001



Parámetros zootécnicos.

Cuadro numero 6.5 Datos obtenidos de REDVET.

Parto:	80 – 90 %
Mortalidad en bucerros:	3-5 %
Mortalidad adultos:	1 %
Intervalo entre parto:	400-420 %
Período de lactancia (días):	240-270
Producción de leche (lts/día):	4.5-6.5
Producción (lts/lactancia/día):	1080-1560
Peso al nacer (Kg.):	34-38
Peso al destete 8-10 meses (Kg.):	220-240
Edad al primer parto (meses):	30-36
Peso al matadero 24-30 meses (Kg.):	480-500
Vida útil búfala (años):	18
Vida útil búfalos sementales (años):	7

Fuente: Almaguer Pérez. (32).